

**RETROGRADE MARKIERUNG VON KORTIKOSTRIATALEN
NEURONEN MIT WEIZENKEIM - AGGLUTININ
GEKOPPELTER MEERRETTICH - PEROXIDASE BEI AFFEN :
EIN EXPERIMENTELLER BEITRAG ZUR ORGANISATION
DES KORTIKOSTRIATALEN SYSTEMS**

MIKLOS RUFFY VARGA

1988

Disbui. MÜNCHEN

1988





Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Institut für Medizinische Psychologie
der Ludwig-Maximilians-Universität München
Vorstand: Prof. Dr. E. Pöppel

vorgelegt über
Prof. Dr. Dr. habil. H. E. König
Lehrstuhl für Tieranatomie I
der Ludwig-Maximilians-Universität München
Vorstand: Prof. Dr. B. Vollmerhaus

Retrograde Markierung von kortikostriatalen Neuronen mit
Weizenkeim-Agglutinin gekoppelter Meerrettich-Peroxidase bei
Affen: Ein experimenteller Beitrag zur Organisation des
kortikostriatalen Systems

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde der
Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von

Miklos Ruffy Varga

aus

Budapest

München 1988

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. M. Rüsse

Referent: Prof. Dr. Dr.habil. H.E. König

Korreferent: Prof. Dr. E. Dahme

Tag der Promotion: 29. Juli 1988

INHALTSVERZEICHNIS

1.	Einleitung.....	3
2.	Material und Methodik.....	11
3.	Eigene Untersuchungen zur Verteilung von kortikostriatalen Neuronen.....	23
	A. HRP-WGA-Injektion in das Caput nuclei caudati...	26
	B. HRP-WGA-Injektion in das Corpus nuclei caudati..	33
4.	Diskussion.....	41
5.	Zusammenfassung.....	49
6.	Summary.....	51
7.	Literaturverzeichnis.....	53
8.	Anhang.....	56

ABKÜRZUNGEN

HRP-WGA	horseradish peroxidase - wheat germ agglutinin
Cd	Nucleus caudatus
AS	Sulcus arcuatus
PS	Sulcus principalis
CS	Sulcus centralis
SF	Fissura Sylvii
IP	Sulcus intraparietalis
STS	Sulcus temporalis superior
LS	Sulcus lunatus
IOS	Sulcus occipitalis inferior
A	Area
V	visuelle Area
KGW	Körpergewicht

EINLEITUNG

Die Frage, wie motorisches Verhalten von visueller, somato-sensorischer und auditorischer Information gesteuert wird und welche Strukturen des Gehirns für diese sensomotorische Integration verantwortlich sind, ist eines der wesentlichen Probleme in der Neurobiologie. In den letzten Jahren hat sich zunehmend gezeigt, daß neben den kortikokortikalen Verbindungen von der visuellen Hirnrinde zum Motorkortex auch die direkten Verbindungen sensorischer Hirnrindenabschnitte zu subkortikalen, an der Steuerung der Motorik beteiligten Zentren, von Bedeutung sind. Eine herausragende Rolle spielen hierbei die Basalganglien.

Die Basalganglien sind massive Kerngebiete im Vorderhirn der Säugetiere. Sie bestehen aus dem Nucleus caudatus und dem Putamen, die als Striatum zusammengefaßt werden, sowie dem Globus pallidus pars medialis und pars lateralis, zusammen als Pallidum bezeichnet. Weiterhin werden der Nucleus subthalamicus und im älteren Schrifttum auch der Amygdala-komplex zu den Basalganglien gerechnet. Die Lage der Basalganglien und speziell die des Nucleus caudatus in der rechten Hemisphäre eines Affengehirns ist in der Abbildung 1 dargestellt.

Traditionell wurde die Funktion der Basalganglien in motorischen Aufgaben gesehen, sie galten als ein Zentrum der sogenannten extrapyramidalen Motorik (Abb. 3 und 4). Dies ergab sich zum einen aufgrund der anatomischen Verschaltung,

derzufolge das Striatum kortikale Fasern, insbesondere vom Bereich der sensomotorischen Hirnrinde, erhält und über thalamische Umschaltung zurück zum motorischen und prämotorischen Kortex projiziert, zum anderen aus pathologisch-anatomischer Sicht. Nach der "klassischen" Ansicht gilt das Striatum, als ein Teil des "extrapyramidalen Systems", in seiner Funktion als motorisch; dafür sollen die typischen Störungen der Motorik beim Morbus Parkinson, dem ein Defekt der dopaminergen Verbindung von der Substantia nigra zum Striatum zugrundeliegt und die Chorea Huntington, ein genetisch bedingter Neuronenuntergang im Striatum, insbesondere im Caput nuclei caudati (ADAMS und VICTOR, 1985), sprechen.

Eine Fülle von Hinweisen legt jedoch nahe, daß das Striatum auch an perzeptiven und kognitiven Funktionen beteiligt und als ein sensomotorisches Integrationszentrum anzusehen ist. Neben tierexperimentellen Läsionsstudien (siehe TEUBER, 1976) und Einzelzelluntersuchungen (ROLLS et al, 1983; CAAN et al, 1984) unterstützen vor allem neuroanatomische Befunde diese These. Insbesondere Projektionen, die von assoziativen Kortexarealen ausgehen und zum Nucleus caudatus ziehen, bilden einen Teil der Bahnen, auf denen kognitive Zentren die motorischen Reaktionen beeinflussen (siehe SELEMON und GOLDMANN-RAKIC, 1985).

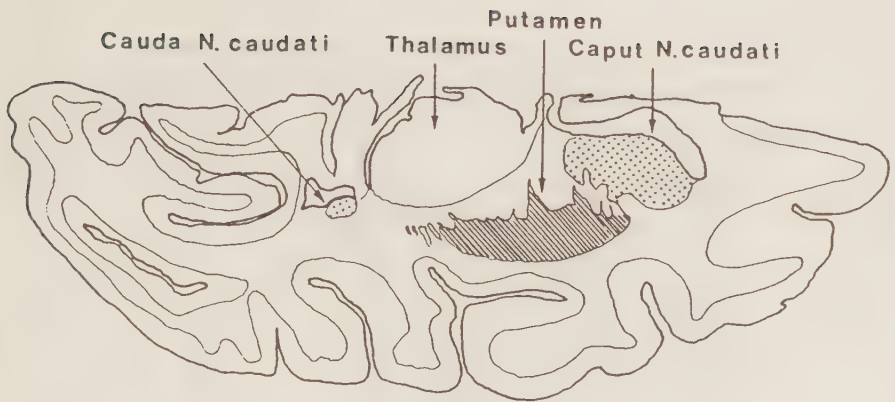


Abb.1 Lage des Nucleus caudatus sowie des Putamen in einem Horizontalschnitt der rechten Hemisphäre eines Affengehirns (*Macaca fascicularis*).



Abb.2 Schematische Darstellung der Lage des Nucleus caudatus innerhalb der rechten Hemisphäre in Seitenansicht. Die Schnittebene des Präparates aus Abb.1 ist eingezeichnet.

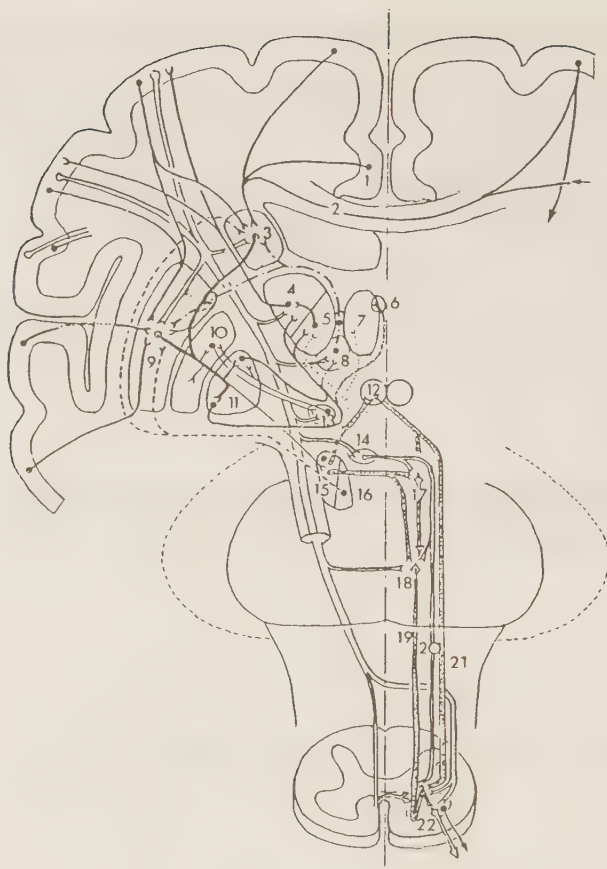


Abb.3 Schematische Darstellung des Striatums in einer Rückkopplungsschleife des motorischen Systems nach NIEUWENHUIJS, VOOGD, VAN HUIJZEN 1979.

- | | |
|--|---------------------------------------|
| 1. Gyrus cinguli | 10. Globus pallidus, pars lateralis |
| 2. Corpus callosum | 11. Globus pallidus, pars medialis |
| 3. Nucleus caudatus | 12. Colliculus superior |
| 4. Nucleus ventralis lateralis thalami | 13. Nucleus subthalamicus |
| 5. Nucleus ventralis anterior thalami | 14. Nucleus ruber |
| 6. Nucleus habenularis | 15. Substantia nigra, pars reticulata |
| 7. Nucleus medialis thalami | 16. Substantia nigra, pars compacta |
| 8. Nuclei intralaminare thalami | 17. Formatio reticularis |
| 9. Putamen | |

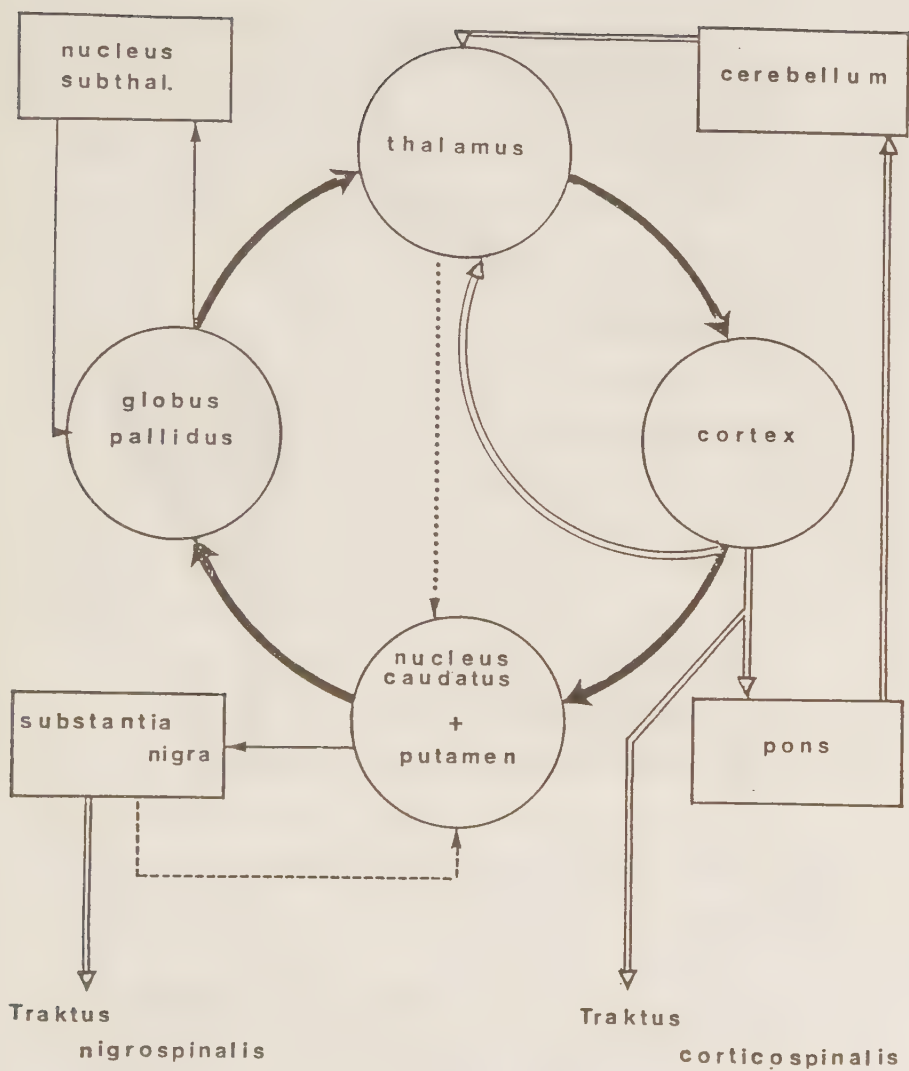


Abb.4 Schematische Übersicht über das extrapyramidale System nach NIEUWENHUYSEN, VOGD und VAN HUIJZEN 1979.



⊕ frontal

○ parietal

◆ occipital

◻ temporal

▨ posterior parietal

◼ dorsolat. prefrontal

▩ orbitofrontal



Abb.5 Eine vergleichende Darstellung der kortikostriatalen Projektionen

Oben: Das meistanerkannte Modell nach KEMP und POWELL 1970 zeigt eine anteroposteriore Organisation der kortikalen Afferenzen im Nucleus caudatus.

Unten: Das Modell nach SELEMON und GOLDMANN-RAKIC 1985. zeigt eine longitudinale Anordnung der genannten Projektionen.

Trotz der Wichtigkeit dieser Projektionen für die Funktion des Endhirns sind die Grundzüge der kortikostriatalen Verbindungen bislang nicht vollständig bekannt. Dem gegenwärtig anerkannten Modell zu dieser Organisation liegen Studien der durch kortikale Läsionen ausgelösten Faserdegenerationen im Striatum zugrunde (WHITLOCK und NAUTA, 1956; DEVITO und SMITH, 1964; JOHNSON et al, 1968; PETRAS 1969; KEMP und POWELL, 1970). Die Untersuchungen zeigten, daß kortikostriatale Terminalfelder im Nucleus caudatus in einer anteroposterioren Anordnung organisiert sind, so daß der frontale Kortex auf das Caput, der parietale Kortex auf das Corpus und temporaler und okzipitaler Kortex auf die dorsale und ventrale Region der Cauda des Nucleus caudatus projizieren. Eine ähnliche, anteroposteriore Anordnung der kortikalen Terminalfelder wurde auch im Putamen beobachtet (Abb. 5 oben).

Diese Vorstellung ist tief in der neurologischen Literatur verankert. Neue Erkenntnisse aus autoradiographischen Faserstudien haben sich aber damit nicht vereinbaren lassen. YETERIAN und VAN HOESSEN (1978) und neuerdings PEARSON (1983) fanden beim Vergleich der Projektionen verschiedener Rindenfelder, daß Rindenareale, die über kortikokortikale Projektionen rückläufig miteinander verbunden sind, im Nucleus caudatus überlappende Terminalfelder haben. Durch die beschriebene Überlappung kann ein strikt topographisches Organisationsprinzip der kortikostriatalen Verbindungen nicht aufrecht erhalten werden. Ein vollständig neues

Organisationsprinzip formulierten SELEMON und GOLDMAN-RAKIC, (1985): Terminalfelder der kortikostriatalen Verbindungen sollen sich entlang der ganzen rostrokaudalen Ausdehnung des Nucleus caudatus erstrecken und in einer mediolateralen Weise geordnet sein. Frontale Rindenfelder projizieren danach in mediale Abschnitte des Nucleus caudatus, hintere parietale Rindenfelder mehr in laterale Abschnitte (Abb. 5 unten).

Die vorliegende Arbeit will erneut die Prinzipien der kortikostriatalen Organisation untersuchen. Mit retrograden Markierungsmethoden sollen bei Affen diejenigen Neurone der Hirnrinde dargestellt werden, die ihre Axone zu einem umschriebenen Teil des Nucleus caudatus, in den Markierungssubstanz injiziert worden war, entsenden. Aus der Verteilung der markierten Neurone in der Hirnrinde kann dann auf die zugrundeliegenden Prinzipien in der kortikostriatalen Organisation - topographisch oder konvergierend -geschlossen werden.

Das experimentelle Vorgehen umfaßt die elektrophysiologische Lokalisation des Zielgebietes am narkotisierten Tier, die Injektion der Markierungssubstanz und die histologische Aufarbeitung des Materials. Das Schwergewicht der Arbeit liegt in der mikroskopischen Auswertung der Hirnschnitte und in der Rekonstruktion der topographischen Verteilung der markierten Neurone.

MATERIAL UND METHODIK

Methodischer Kernpunkt der vorliegenden Arbeit ist der retrograde Transport des Enzyms Meerrettich-Peroxidase (HRP) vom Nervenzellkörper in die Axonterminalen. Ein wesentliches Prinzip des Stofftransportes innerhalb von Nervenzellen ist, daß Aminosäuren, Proteine und andere Makromoleküle und selbst Zellorganellen im Axon sowohl retrograd, d.h. von den Axonterminalen zum Soma, als auch anterograd, d.h. vom Soma zu den Axonterminalen, transportiert werden. Dieser Stofftransport ist also bezüglich der beförderten Stoffklasse relativ unspezifisch. Er schließt auch körperfremde Enzyme wie zum Beispiel Meerrettich-Peroxidase ein. Aufgrund der Existenz dieses axonalen Transportes lassen sich neuronale Verbindungen nachweisen. Die enzymatische Aktivität eines Enzyms wird in den Bereich der Zellkörper eingebracht, bis in die Terminalen transportiert und für eine Farbreaktion benutzt; im Falle der Meerrettich-Peroxidase zur Oxydation des Chromogens Tetramethylbenzidin, das in eine farbige, relativ schlecht lösliche Substanz überführt wird. Die Kopplung von HRP an das Lektin Weizenkeim-Agglutinin (WGA) katalysiert die Einschleusung des Enzyms in die Zelle, da WGA spezifische Bindungsaffinität an Nervenzellmembranen hat und dadurch den transmembranösen Transport von HRP steigert. Der Nachweis von Chromogenprodukt in feinkörnig verteilter Form und in einer gewissen Entfernung von der Injektionsstelle des Enzyms beweist eine neuronale Projektion vom Injektionsort zu einem markierten Terminalfeld. Im Detail

sind die molekularbiologischen Vorgänge der Aufnahme durch die Zellmembran und des Stofftransports im Axon sowie die Methoden des enzymohistochemischen Nachweises von Meerrettich-Peroxidase von WARR et al. (1981) dargestellt.

Die Experimente wurden an elf drei bis vier Kilogramm schweren Altweltaffen der Species *Macaca fascicularis* durchgeführt. Das gesamte System der elektrischen Reizung und extrazellulären Ableitung wurde zuerst an Ratten erprobt. Im Experiment wurde der Injektionsort zunächst stereotaktisch angezielt und dann elektrophysiologisch identifiziert.

Die Anästhesie wurde durch intramuskuläre Applikation von Xylazin: 0.5 mg/kgKGW und Ketaminhydrochlorid: 3.0 mg/kgKGW (Rompun[®]/Ketanest[®]) eingeleitet. Anschließend wurden die Tiere mit Na-Pentobarbital: 15.0 mg/kgKGW (Nembutal[®]) narkotisiert und mit Pancuroniumbromid: 0.06 mg/kgKGW relaxiert. Diese Maßnahme machte die Intubation und künstliche Beatmung der Affen erforderlich.

Zum Aufsuchen des Zielgebietes mit Elektroden wurde der Schädel des Tieres in einen stereotaktischen Rahmen eingespannt. Dabei wird der Kopf durch Ohrstifte in den äußeren knöchernen Gehörgängen, durch Halterungen am unteren Rand der beiden Orbitae und an den oberen Molaren festgehalten. Auf diese Weise wird eine stabile Fixation des knöchernen Schädels in vivo erreicht, sodaß beliebige Raumpunkte des Gehirns in einem an der orbitomeatalen Linie orientierten Koordinatensystem angezielt werden können.

Das Operationsfeld wurde nach vorangegangenen Rasieren und Desinfizieren der Haut mit sterilen Tüchern abgedeckt. Unter aseptischen Bedingungen wurde mit einem medianem Hautschnitt der knöcherne Schädel freigelegt und der anteroposteriore Nullpunkt (AP0) an der Sutura mediana markiert. Die stereotaktischen Koordinaten für die Substantia nigra und für den Nucleus caudatus wurden dem Atlas von J. SZABO und N. M. COWAN (1984) entnommen.

Danach wurde eine Reizelektrode in die Substantia nigra gesetzt und durch Einzementieren an der Trepanationsstelle befestigt. Anschließend wurde nach entsprechender Trepanation eine Ableiteelektrode in den Nucleus caudatus bei adäquater Reizung der Substantia nigra (Einzelimpuls 0.1 msec Dauer, 1-2 μ A Intensität) mit Hilfe der elektro-physiologischen Identifikationsmethode eingeführt. Beim Auffinden der Zielstruktur konnte ein konstant erweitertes Feldpotential abgeleitet werden. Daraufhin wurde über eine Mikropipette unter Druck zwischen 0.1 und 0.3 μ l des Markierungsenzyms injiziert (siehe auch Abb. 6).

Nach Entfernen der Mikrospritze wurde die Dura mater über den Kortex gebreitet, der Knochendefekt mit Fibrinschaum (Melitta[®], Braun Melsungen) abgedeckt und mit Zahnzement (Paladur[®], Kulzer) dicht verschlossen. Anschließend wurde die Wunde mit Subkutan- und Kutannaht versorgt und das Tier nach intramuskulärer Verabreichung von 200 000 IE eines Langzeitpenicillin-Präparates (Tardocillin[®]) zum Aufwachen in den Käfig zurückgesetzt. Nach einer Überlebenszeit von 40

Stunden wurde das Tier erneut mit einer Kombination von 0.5 mg/kgKGW Xylazin und 3.0 mg/kgKGW Ketaminhydrochlorid (Rompun[®]/Ketanest[®]) und anschließend Na-Pentobarbital narkotisiert. In tiefer Narkose wurde der Thorax eröffnet, in das linke Herz eine Perfusionskanüle durch die Herzspitze eingeführt und das rechte Herzohr mit einem Schnitt eröffnet. Zur besseren Perfusion des Gehirns wurde die Aorta abdominalis abgeklemmt.

Das Gehirn wurde zunächst mit körperwarmer physiologischer Kochsalzlösung perfundiert, dann mit einem Gemisch von 1 % Paraformaldehyd und 2.5 % Glutaraldehyd zur Fixation des Gewebes und anschließend mit einem Phosphatpuffer mit 4 % Saccharose. Der Zuckerzusatz erniedrigt den Gefrierpunkt, verhindert daher die Kristallbildung und dient auf dieser Weise der besseren Gewebserhaltung bei Gefrierschnitten.

Die genaue Angabe der verwendeten Lösungen sowie die Rezepte zu ihrer Herstellung sind aus dem Anhang ersichtlich.

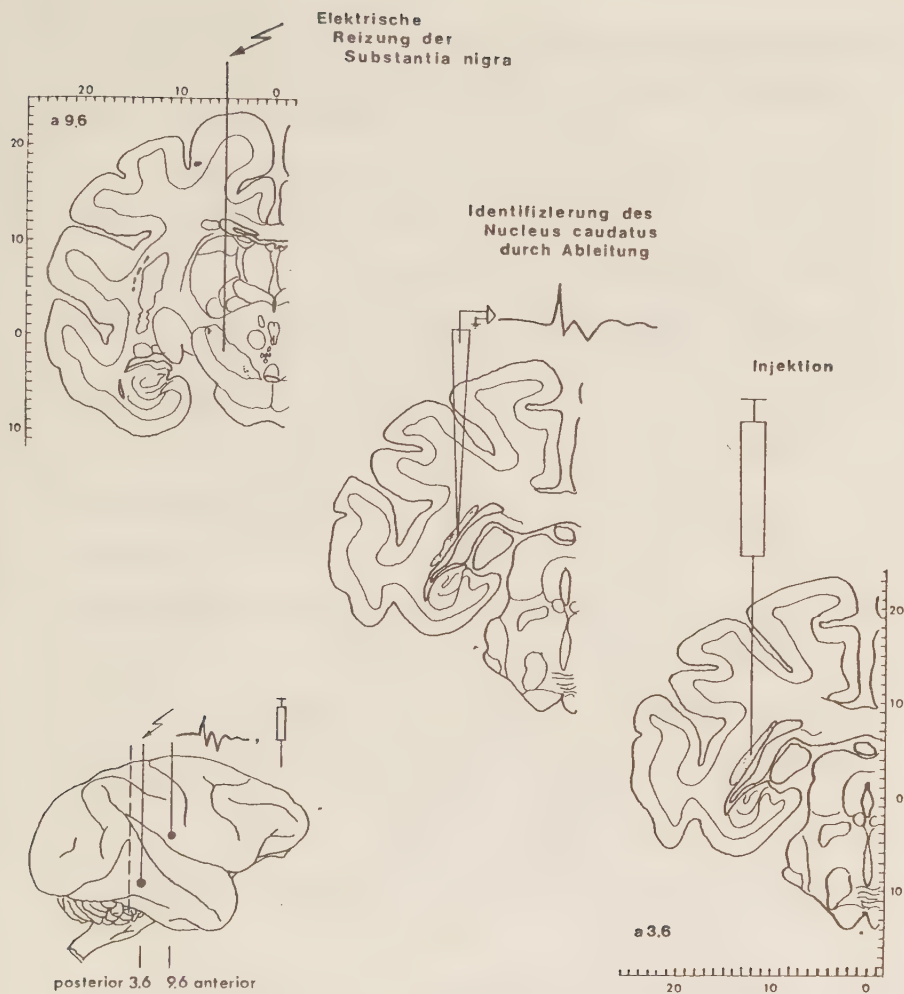


Abb.6. Schematische Darstellung des Versuchsablaufs. Die Abbildung zeigt die elektrophysiologische Identifizierung des Nucleus caudatus und die nach Ableitung an der selben Stelle erfolgte Injektion.

Das fixierte Gehirn wurde in toto vorsichtig aus der Schädelkapsel herauspräpariert, in der Fissura longitudinalis cerebri sagittal durchtrennt und die injizierte Hemisphäre so geblockt, daß sie in einer horizontalen Ebene nach BRODMANN 1905 (siehe auch Abb. 9) auf den Mikrotom Tisch aufgebracht werden konnte. Dieser Block enthielt immer die Injektionsstelle sowie den weitaus größten Teil des Nucleus caudatus, dessen ganz ventrale Abschnitte allerdings durch das Blockieren in Einzelfällen verloren gingen.

Der Gehirnblock wurde mit Trockeneis auf den Mikrotom Tisch aufgefroren und in Serie 80 µm dick horizontal geschnitten. Jeder Schnitt wurde in Phosphatpuffer aufgefangen und jeder 5. Schnitt histologisch weiter verarbeitet. Dafür wurden die Schnitte zunächst in einem Vorinkubationsmedium inkubiert, anschließend in das Inkubationsmedium gebracht, dem in einem weiteren Schritt dann das Chromogen, nämlich Tetramethylbenzidin und Wasserstoffperoxid (H_2O_2) als Sauerstoffdonator, beigegeben waren. Dies führte in der Regel zu einem raschen Sichtbarwerden des Enzyms an der Injektionsstelle.

Nach mehreren Waschgängen wurden die Schnitte auf gelatinisierte Objektträger aufgezogen. Die eine Hälfte dieser Schnitte wurde sofort in 100 %-igem Alkohol dehydriert und mit dem Eindeckmittel DPX eingedeckt (DPX Mounting Medium[®], Firma Gurr). Die andere Hälfte der Schnitte wurde nach der Methode von ADAMS 1980 mit Thionin gegengefärbt, um die Zellkörper sichtbar zu machen.

Die gesamte Prozedur der Injektion sowie die histochemische Verarbeitung der Gehirnschnitte ist stark schematisiert in der Abbildung 7 dargestellt.

Die histologischen Präparate wurden unter dem Mikroskop (Dialux 20nd, Firma Leitz) bei mittlerer Vergrößerung auf die Anwesenheit von retrograd markierten Neuronen im Kortex untersucht. Als vorteilhaft erwies sich die Benutzung einer Polarisationsoptik, da das Chromogen als kristalliner Niederschlag die Polarisationssebene des Lichtes dreht und damit durch Verwendung von zwei Polarisationsfiltern im geeigneten Winkel zueinander isoliert sichtbar gemacht werden kann.

Die Verteilung der retrograd markierten Neurone wurde mit Hilfe eines "X-Y Plotters" festgehalten. Dabei ist der Kreutztisch am Mikroskop über Präzisions-Analog-Wegnehmer mit dem X-Y Koordinatensystem eines Schreibers verbunden, sodaß bei der Durchmusterung eines histologischen Präparates die Schnittumrisse und die Lokalisation markierter Zellen in einer Zeichnung festgehalten werden können.

Um ein Neuron als spezifisch retrograd markiert, d.h. mit dem Reaktionsprodukt angefüllt, identifizieren zu können, mußten folgende Kriterien erfüllt sein:

1. Feinkörnigkeit des Reaktionsproduktes
2. Ausdehnung des Reaktionsproduktes innerhalb der typischen morphologischen Konfiguration einer Nervenzelle
3. Nur markierte Dendriten wurden "geplottet". Axone, die zwar auf das Vorhandensein einer gefüllten Nervenzelle deuteten, wurden definitionsgemäß nicht festgehalten.

Bei der Auswertung eines Experiments wurde folgendermaßen vorgegangen: Zuerst wurden die Umrisse eines histologischen Schnittes gezeichnet. Es folgte die Durchmusterung der gesamten Hirnrinde, die angefärbten Neurone wurden als Punkte ("plots") in der Zeichnung markiert. Zum Schluß wurde die Ausdehnung der markierten Neuronenfelder unter Beachtung der jeweiligen Dicke und Abstände der Schnitte in einer orthogonalen Seitenansicht der Hemisphäre rekonstruiert. Die Verteilung der Neurone wurde auf die zytoarchitektonische Felderung der Hirnrinde nach BRODMANN (1905) bezogen (Abb. 8 und 9).

BRODMANN'S Untergliederung ist die in der Literatur am häufigsten gebrauchte, außerdem liegt bei ihm eine Kartierung der Rindenfelder in horizontalen Schnitten vor. Dies ermöglicht einen direkten Vergleich mit den im Rahmen dieser Arbeit angefertigten histologischen Schnitten und die Übertragung der von BRODMANN angegebenen zytoarchitektonischen Grenzen.

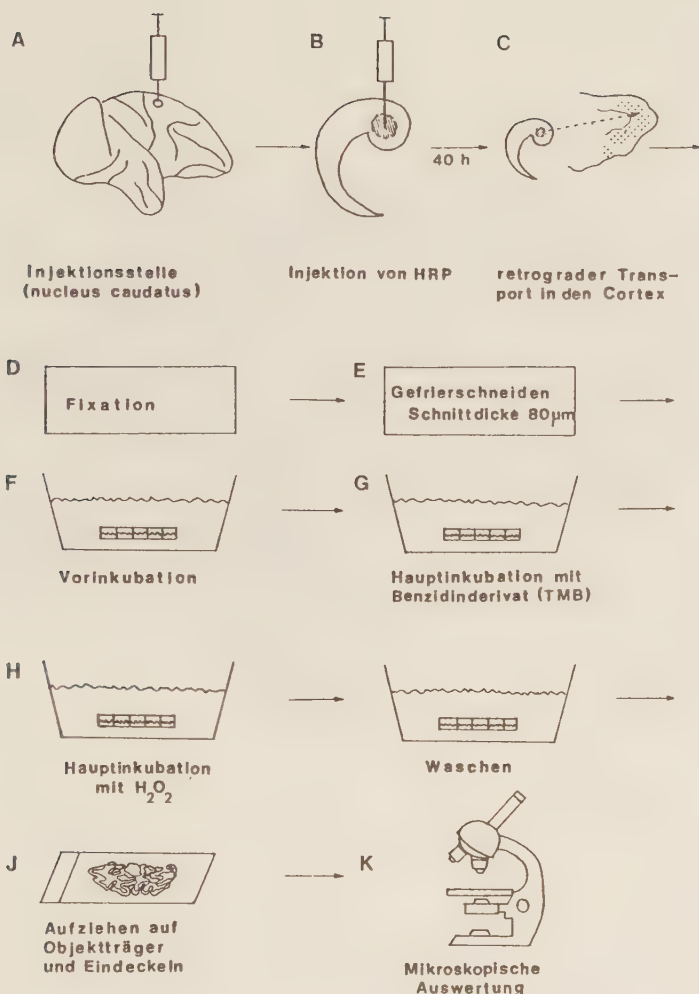


Abb.7. Schematische Darstellung des Versuchsablaufs. Die Abbildung zeigt, angefangen mit der Injektion der Meerrettich-Peroxidase, die gesamte histochemische Aufarbeitung des Gehirnmaterials bis zur Auswertung.

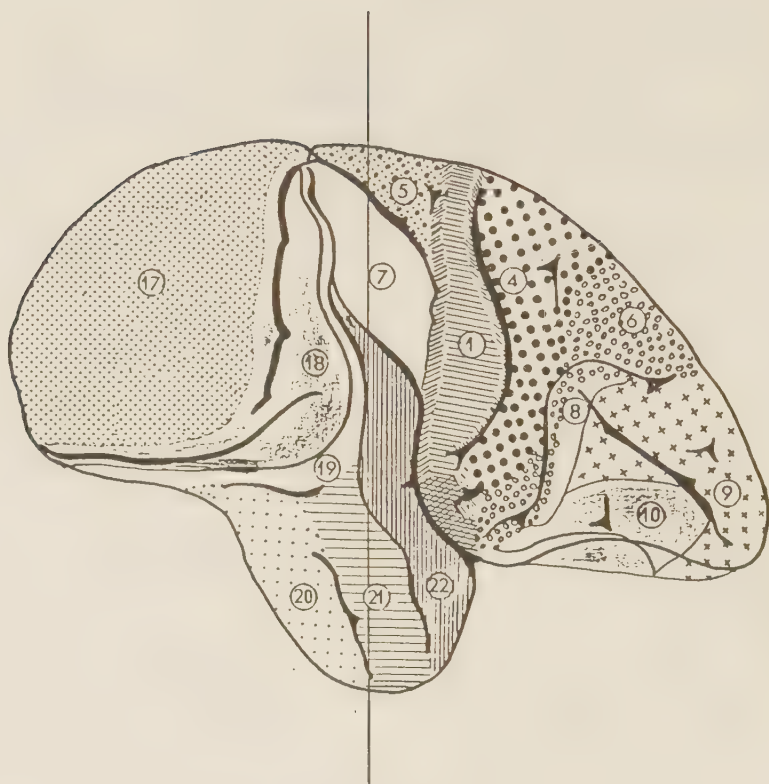


Abb.8. Zytoarchitektonische Gliederung der Rindenfelder nach BRODMANN (1905)

- | | |
|------------------------------|-------------------------|
| 1. A. postcentralis communis | 10. A. orbitalis |
| 4. gigantopyramidalis | 17. striata |
| 5. praeparietalis | 18. occipitalis |
| 6. frontalis agranularis | 19. praeoccipitalis |
| 7. parietalis | 20. temporalis inferior |
| 8. frontalis granularis | 21. temporalis media |
| 9. praefrontalis | 22. temporalis superior |

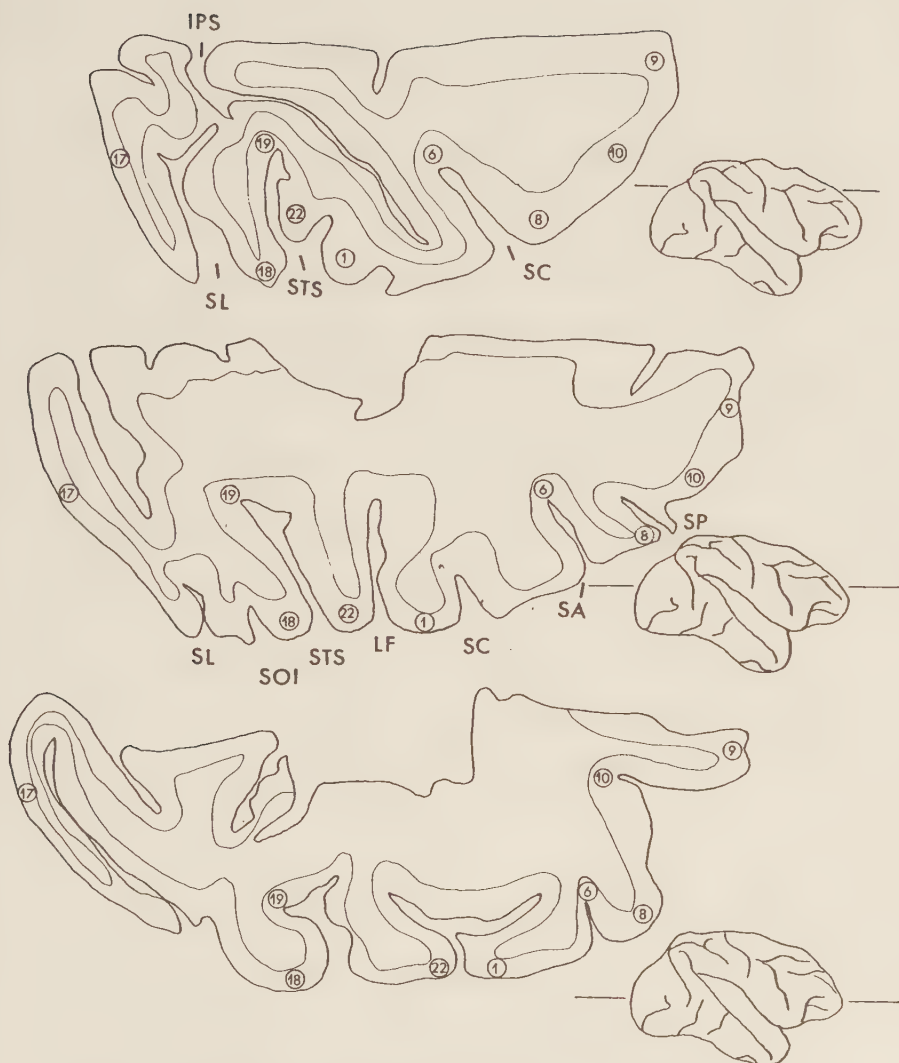


Abb.9 Darstellung der Kortexareale in verschiedenen Horizontalschnitten eines Affengehirns (modifiziert nach BRODMANN 1905). Die Bezeichnungen der verschiedenen Areale sind aus Abb.8 ersichtlich.

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Injektionen von Meerrettich-Peroxidase gekoppeltem Weizenkeim-Agglutinin (HRP-WGA) wurden in den Caput- und Corpusabschnitt des Nucleus caudatus gezielt stereotaktisch und/oder unter elektrophysiologischer Kontrolle des Zielortes gesetzt. Die Ausbreitung des injizierten Enzyms entsprach im wesentlichen dem Kerngebiet und war somit auf den Nucleus caudatus beschränkt. Eine gering- bis mittelgradige Diffusion in die darüber, d.h. dorsal gelegene weiße Substanz vor allem entlang des Stichkanals und geringfügig auch in den Kortex unmittelbar um die Einstichstelle der Injektionsnadel herum, war unvermeidbar.

Es erscheint jedoch fraglich, ob hier eine nennenswerte Aufnahme von Markierungssubstanz stattgefunden hat (VANEGAS et al. 1977). Kontrollversuche, bei denen der Nucleus caudatus nicht getroffen wurde und somit das HRP-WGA ausschließlich in die weiße Substanz injiziert wurde, zeigten in einem äußerst geringen Ausmaß retro- oder anterograden Stofftransport in die Hirnrinde.

Der gesuchte retrograde Transport von HRP-WGA wurde durch die typische feinkörnige Verteilung des Reaktionsproduktes innerhalb des Somas von kortikalen Nervenzellen auch unter deutlicher Aussparung des Nucleus an einigen gut geschnittenen Beispielen nachgewiesen. Als weiteres Kriterium für das Vorliegen kortikostriataler Verbindungen, d.h. für das Vorliegen von Neuronen, die von der Hirnrinde zum Nucleus

caudatus projizieren, wurde das Fehlen anterograd markierter Terminalfelder genommen. da bekannt ist, daß kortikostriatale Verbindungen unidirektional, kortikokortikale Verbindungen aber weitgehend oder vollständig reziprok organisiert sind (siehe JONES und WISE, 1977; DESIMONE und UNGERLEIDER 1984; FRIES und LEHMANN, 1987). Der anterograde Transport ist typischerweise gekennzeichnet durch die Verteilung von feingranulärem Reaktionsprodukt im Neuropil der Hirnrinde, wobei gelegentlich Bruchstücke von Axonen nachweisbar sind. Bei der Auswertung der Hirnschnitte wurden daher Regionen, bei denen nicht nur retrograd markierte Zellen zu finden waren, sondern auch anterograde Transport im Sinne von Terminalfeldern nachweisbar war, nicht berücksichtigt.

Nach Injektion von HRP-WGA in den Nucleus caudatus zeigten sich die retrograd markierten Neurone in der Hirnrinde über mehrere Hirnschichten verteilt und waren in der Regel eher klein und nur mittelgradig gut mit HRP-WGA gefüllt. Soweit sich die äußere Form der Somata erkennen ließ, handelte es sich um kleine Pyramidenzellen. Im Gegensatz zu den anderen efferenten Verbindungen der Hirnrinde, wie zum Colliculus superior (FRIES 1984), oder zu den Brückenkernen (GLICKSTEIN et al. 1985), deren Ursprungsneurone streng in Schicht V lokalisiert sind, oder wie den Verbindungen zum Thalamus (GILBERT 1977), deren Ursprungsneurone in Schicht VI lokalisiert sind, finden sich kortikostriatale Neurone sowohl in supra- wie auch infragranulären Schichten, d.h. in

Schichten III IV V und VI verteilt. Einen ähnlichen Befund konnte auch ROYCE (1982) bei der Katze erheben, während JONES und WISE (1977) beim Affen kortikostriatale Zellen wiederum nur in Schicht V lokalisierten.

Da das Striatum einen Teil der grauen Substanz des Telencephalons darstellt, ist es nicht verwunderlich, daß kortikale Projektionen zu diesen Strukturen auch aus Rindenschichten außerhalb von Schicht V, dem Ausgang der mesencephalen und pontinen Projektionen, entspringen, ebenso wie kortikokortikale Verbindungen ihre Verbindung sowohl aus supra- als auch aus infragranulären Schichten nehmen (FRIES und ZEKI 1983).

Im weiteren nehmen wir auf die Schichtverteilung keinen Bezug mehr, sondern versuchen die Lokalisation der markierten Neurone zu der bekannten zytoarchitektonischen Felderung der Hirnrinde (BRODMANN 1905) in Beziehung zu setzen. Der Schwerpunkt der Betrachtung liegt auf der topographischen Verteilung der kortikostriatalen Neurone, wie sie nach Injektionen von HRP-WGA in umschriebene Abschnitte des Nucleus caudatus gefunden werden.

Insgesamt wurden 11 Hemisphären injiziert. Die Ergebnisse sollen im folgenden an zwei repräsentativen Beispielen (Fälle Cd 5 und Cd 6) erläutert werden.

A. Injektion von HRP-WGA in das Caput nuclei caudati (Cd 5)

Nach stereotaktischer Anpeilung und elektrophysiologischer Identifizierung der Zielstruktur wurde 0.5 µl HRP-WGA in das Caput des rechten Nucleus caudatus injiziert.

Koordinaten für das Caput nuclei caudati:

anterioposterior:	+	143.5 mm
lateral		61.0 mm
vertikal (von der Kortexoberfläche)		14.0 mm

In horizontalen Serienschnitten der rechten Hemisphäre wurden die retrograd markierten Neurone "geplottet" und in 12 konsekutiven Horizontalschnitten, die von dorsal nach ventral geordnet sind, dargestellt (Abb. 10. A bis L). Die markierten Neurone sind im wesentlichen in den frontalen Abschnitten des Frontallappens lokalisiert sowie zu einem gewissen Teil auch im cingulären Kortex, auf der medialen Seite oberhalb des Balkens.

In Bezug auf die zytoarchitektonische Kartierung findet sich die Mehrzahl der markierten Neurone in Area 9 und im supraorbitalen Kortex, Areae 10, 11 und 12. In den ventralen Abschnitten der Hemisphäre tauchen dann markierte Neurone im insulären Kortex, Areae 14 und 15, auf. Ebenso finden sich markierte Neurone in den ventralen Abschnitten der Area 8. Im inferotemporalen Kortex läßt sich eine kleinere Anzahl markierter Neurone auch in der Vorderlippe des Sulcus temporalis superior finden. In den dorsalsten Abschnitten müssen die markierten Neurone sicher noch der Area 6 zugerechnet werden.

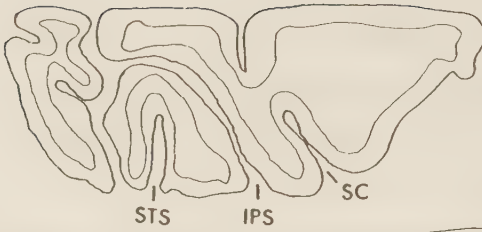
Somit finden sich kortikostriatale Neurone, die zum injizierten Teil des Caput nuclei caudati projizieren, im wesentlichen im sogenannten präfrontalen Assoziationskortex (zum Teil im prämotorischen Kortex sowie in den ventralen Abschnitten des frontalen Augenfeldes), zu einem geringeren Teil in somatosensiblen Assoziationskortex (Insel) und in visuellem Assoziationskortex (unterer Inferotemporalkortex) sowie im limbischen Kortex (Gyrus cinguli).

Für die Beurteilung des vorliegenden Falles scheint von wesentlichen Bedeutung zu sein, daß die markierten Neurone in ihrer Verteilung sich kontinuierlich über die Hirnrinde des Frontallappens ausbreiten. Ausnahmen bilden hier nur Anteile der Inselregion sowie ein kleiner Abschnitt des Inferotemporalkortex. Somit spricht der Befund in diesem Falle für eine streng topographische Organisation, da benachbarte Regionen innerhalb des Kerngebietes des Caput nuclei caudati auch von benachbarten Hirnrindenabschnitten des Frontallappens ihre Projektionen erhalten. Obwohl ein negativer Befund nicht beweisend ist, erscheint bemerkenswert, daß keine Neurone im hinteren Parietallappen oder in zentralen Abschnitten des frontalen Augenfeldes zu finden waren. Ein technischer Artefakt ist hier kaum anzunehmen, da axonaler Transport sowie histochemischer Enzymnachweis in den gleichen Schnitten ja gelungen war. Daraus folgt, daß eine weitläufige Konvergenz heterogener Abschnitte der Hirnrinde zum Caput nuclei caudati mit der gewählten retrograden Markierungsmethode nicht nachgewiesen werden kann.

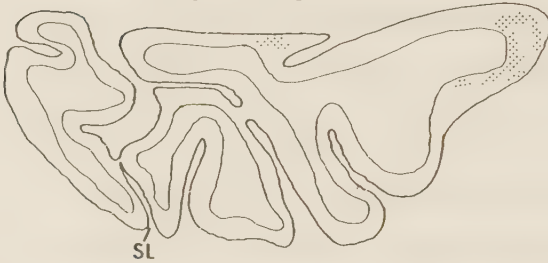
Cd 5



A



B



C

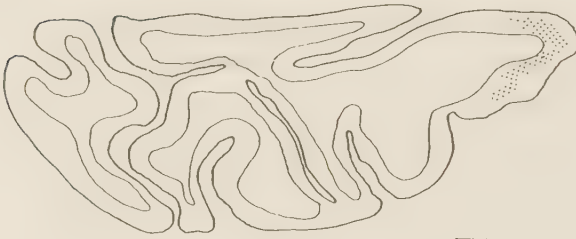


Abb.10 (A-C) Horizontale Serienschritte der rechten Hemisphäre beim Fall Cd 5. Die Verteilung retrograd markierter Neurone ist schematisch dargestellt.

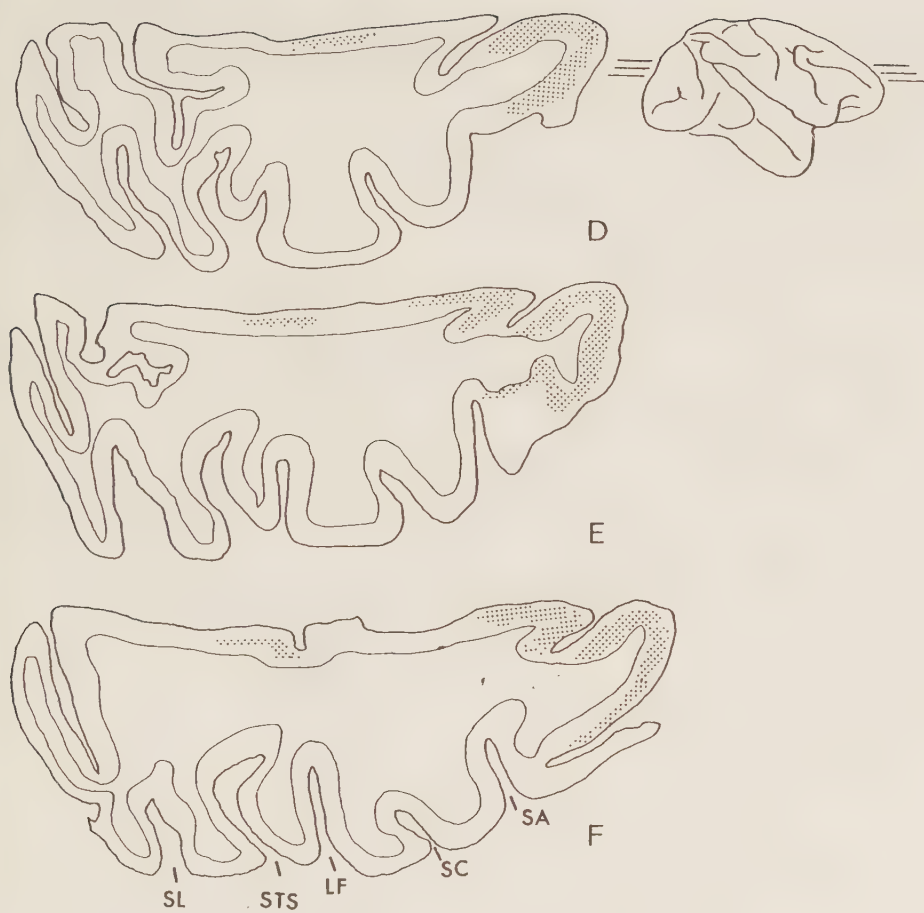


Abb.10 (D-F)



Abb.10 (G-I)

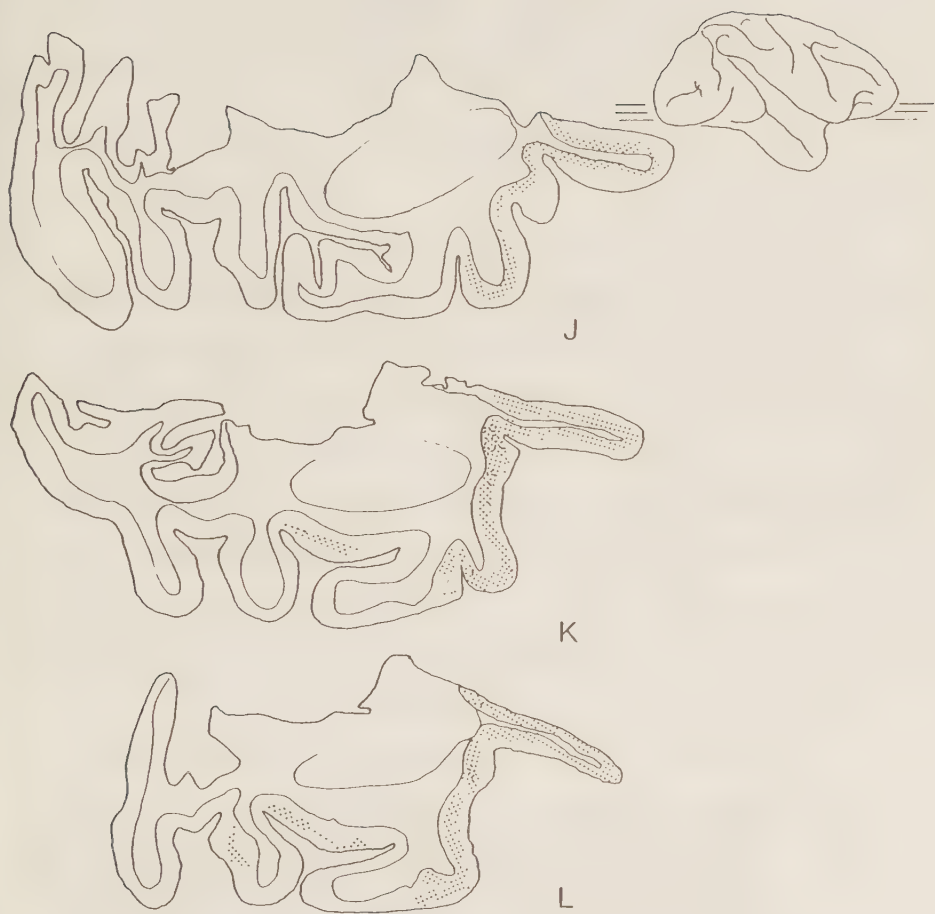


Abb.10 (J-L)

Cd 5

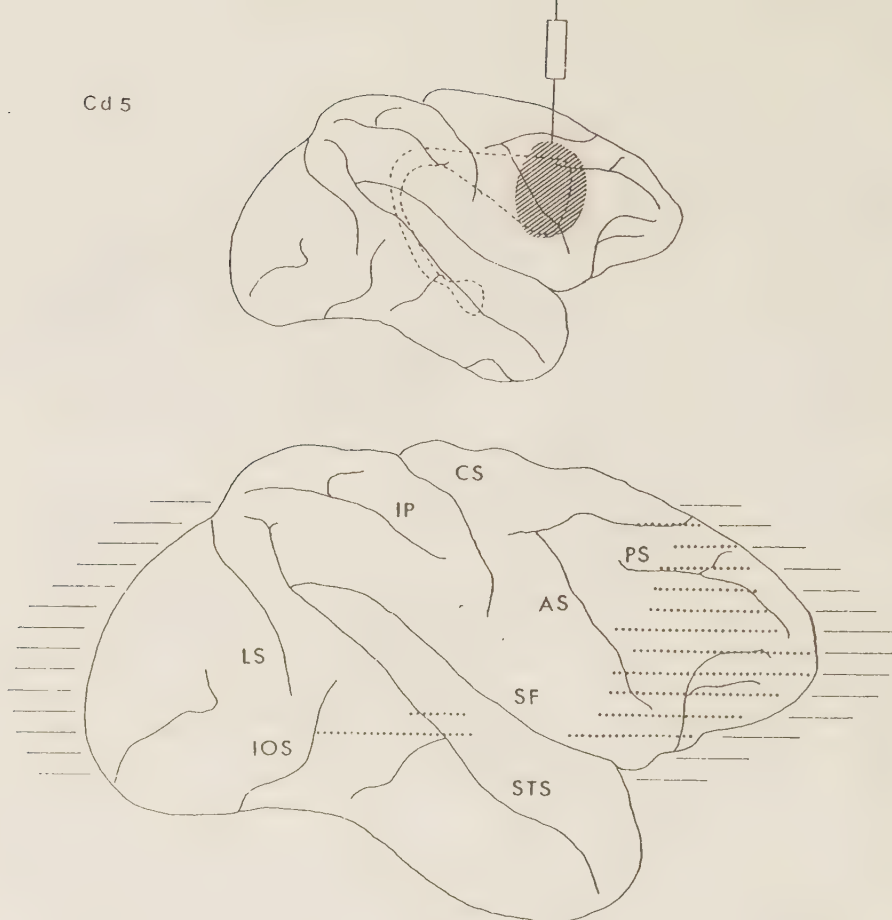


Abb.11 Rekonstruktion der Verteilung retrograd markierter Neurone nach Injektion in das Caput nuclei caudati in orthogonaler Seitenansicht der rechten Hemisphäre im Fall Cd 5. Nur Zellen, die sich auf der lateralen Oberfläche des Kortex befanden, wurden gezeichnet. Zellen vom Fundus der Sulci wurden weggelassen.

AS	Sulcus arcuatus
CS	Sulcus centralis
IOS	Sulcus occipitalis inferior
IP	Sulcus intraparietalis
LS	Sulcus lunatus
PS	Sulcus principalis
SF	Fissura Sylvii
STS	Sulcus temporalis superior

B. Injektion von HRP-WGA in das Corpus nuclei caudati (Cd 6)

Unter stereotaktischer Führung und nach elektrophysiologischer Identifizierung der Zielstruktur wurde 0.4 µl HRP-WGA in das Corpus nuclei caudati injiziert.

Koordinaten für das Corpus nuclei caudati:

anterioposterior:	+	3.5 mm
lateral		12.0 mm
vertikal (von der Kortexoberfläche)		17.0 mm

Das Enzym verbreitete sich im wesentlichen über das Griseum des Nucleus caudatus, ein geringer Anteil diffundierte entlang des Einstichkanals durch die weiße Substanz bis in den darüberliegenden Kortex.

Retrograd markierte Neurone fanden sich in Gruppen (in der englischsprachigen Fachliteratur "cluster") im Gegensatz zu dem vorher beschriebenen Fall Cd 5. Diese Zellgruppen waren sowohl in präzentralen als auch in postzentralen Hirnrindenabschnitten lokalisiert.

Die Hauptlokalisation von "clusters" betraf zum einen prämotorische Rindenteile, wie Area 6 in der hinteren Lippe des Sulcus arcuatus sowie auf der medialen Seite des Interhemisphärenspaltes den Bereich der supplementär-motorischen Area (SMA), zum anderen den primär-motorischen Kortex (insbesondere ventrale Abschnitte, die der Hand- bzw. Gesichtsrepräsentation entsprechen).

Des weiteren fanden sich markierte Neurone in Area 2, in den dorsalen Abschnitten der Vorderseite der Sylvischen

Fissur und im ventralen Abschnitt von Area 2, am Übergang von der Sylvischen Fissur in die innere Region der Insula (Abb. 11 B bis F). Weitere markierte Neurone fanden sich in der Hinterlippe der Sylvischen Fissur (Area 22), in der Tiefe des Sulcus temporalis superior (Area 19, visuelle Area V 5), sowie wiederum auf der medialen Seite der Hemisphäre im Gyrus cinguli.

Es fällt auf, daß in der Verteilung der retrograd markierten Neurone das frontale Augenfeld sowie alle präfrontalen Hirnrindenabschnitte ausgespart bleiben. Ferner liegt auch innerhalb des sensomotorischen Kortex keine Kontinuität markierter Neurone im topographisch-nachbarschaftlichen Sinne vor.

Funktionell kann diese Verteilung dahingehend interpretiert werden, daß der injizierte Abschnitt des Nucleus caudatus Afferenzen aus der motorischen Hirnrinde, die die distale Muskulatur der Vorderextremität repräsentieren, erhält, sowie Afferenzen aus in ihrer Somatotopie entsprechenden Abschnitten des sensorischen Kortex, insbesondere aus Area 2 und dem somatosensorischen Assoziationskortex in den ventralen Abschnitten der Sylvischen Furche. Dazu kommen geringe Projektionen aus einem visuellen Hirnrindenabschnitt, Area 19 (entsprechend V 5, der dem Bewegungssehen dient) sowie eine kleine Verbindung von einem auditorischem Kortexareal (funktionell noch nicht gut charakterisiert).

In den klassischen Assoziationsfeldern, wie dem hinteren Parietallappen (Area 7), der Vorderlippe des Sulcus temporalis superior (enthält eine visuell dominierte polysensorische Region; GROSS et al. 1985) und den frontalen Augenfeldern, ließen sich keine markierten Neurone nachweisen.

Eine eher diffuse Konvergenz aus Abschnitten des infra-orbitalen Kortex, dorsolateralen präfrontalen Kortex und des Parietallappens, wie in den Arbeiten von SELEMON und GOLDMANN-RAKIC (1985) beschrieben, liegt also nicht vor.

Mit Sicherheit läßt sich sagen, daß eine topographische Organisation im strengen Sinne, in der unmittelbar benachbarte Hirnrindenabschnitte zu unmittelbar benachbarten Orten im Nucleus caudatus projizieren, nicht besteht.

Unter funktionellem Gesichtspunkt kann jedoch die Verteilung retrograd markierter Zellen als funktionell-topographisch gedeutet werden. In diesem Sinne projizieren Hirnrindenabschnitte, die mit der sensomotorischen Koordination von Bewegung einer Extremität befaßt sind, auf einen bestimmten Ort des Corpus nuclei caudati. Im vorliegenden Fall projizieren Caudatum-Zellen auf Kortexareale der sensorischen und motorischen Repräsentation des Unterarms.

Cd 6

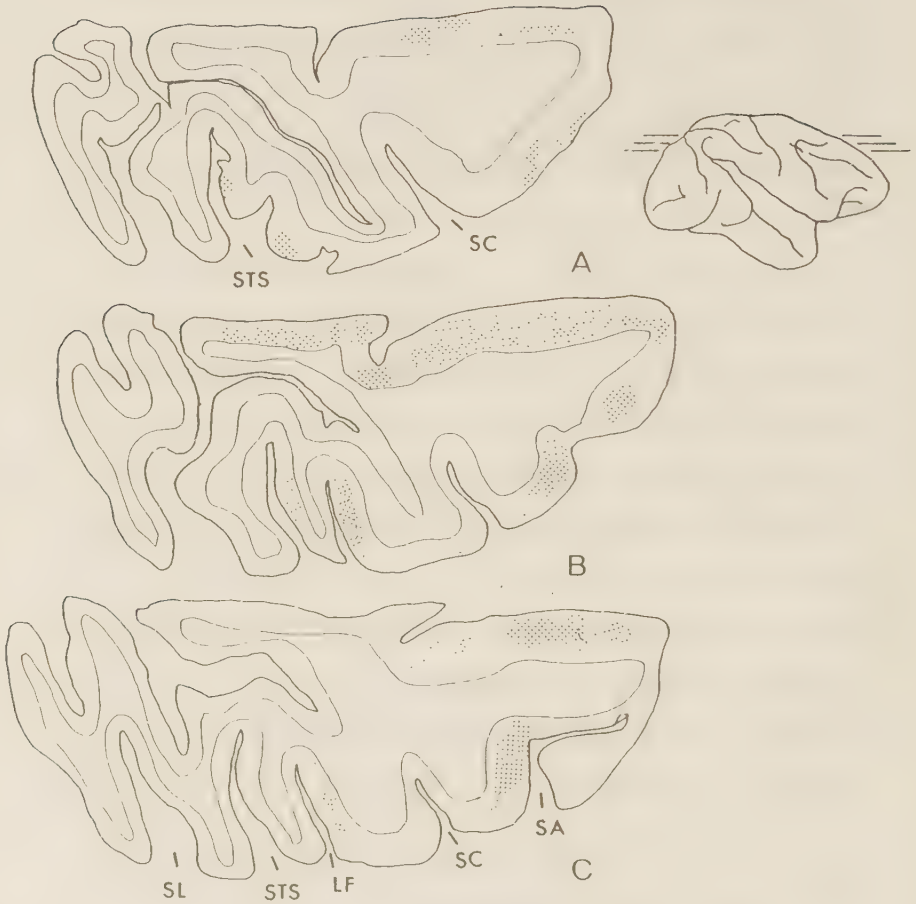


Abb.12 (A-C) Horizontale Serienschritte der rechten Hemisphäre beim Fall Cd 6. Die Verteilung retrograd markierter Neurone ist schematisch dargestellt.

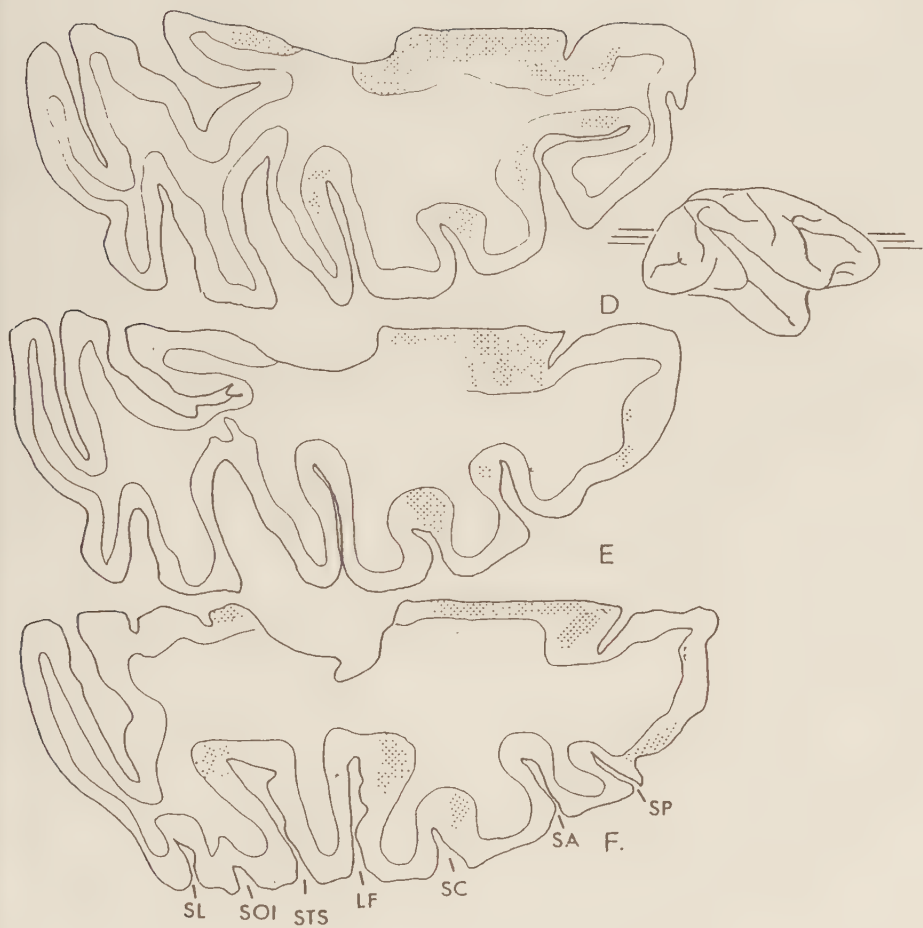


Abb.12 (D-F)

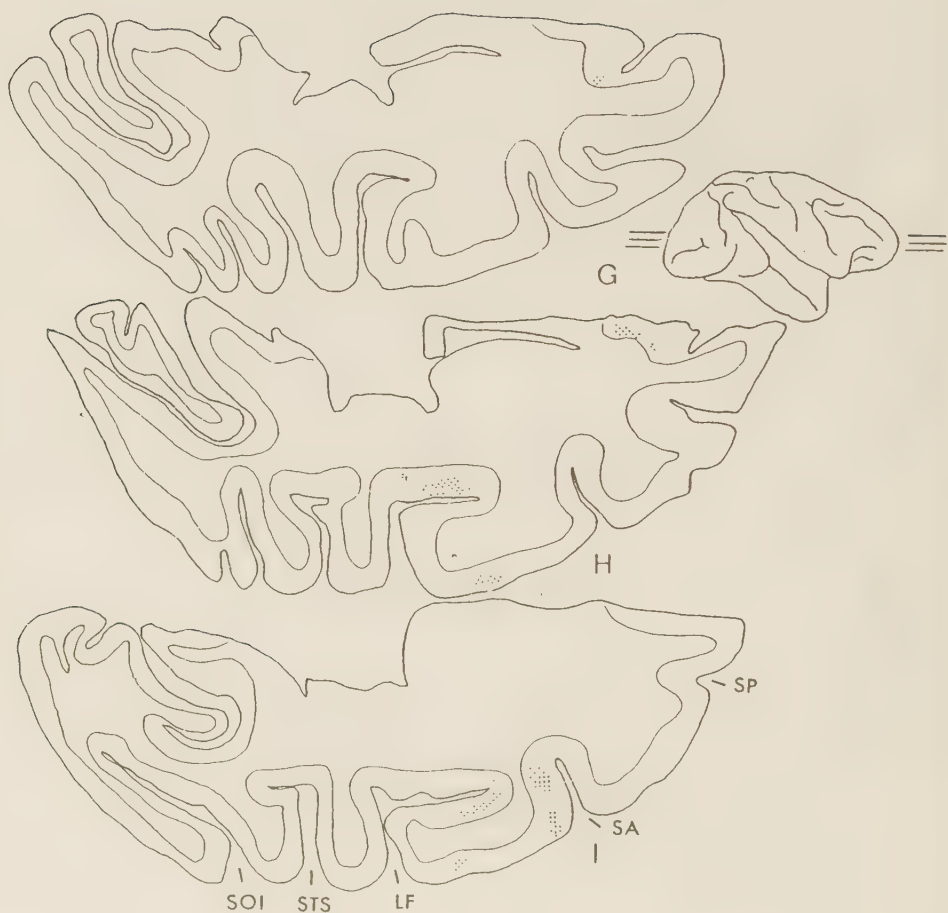


Abb.12 (G-I)

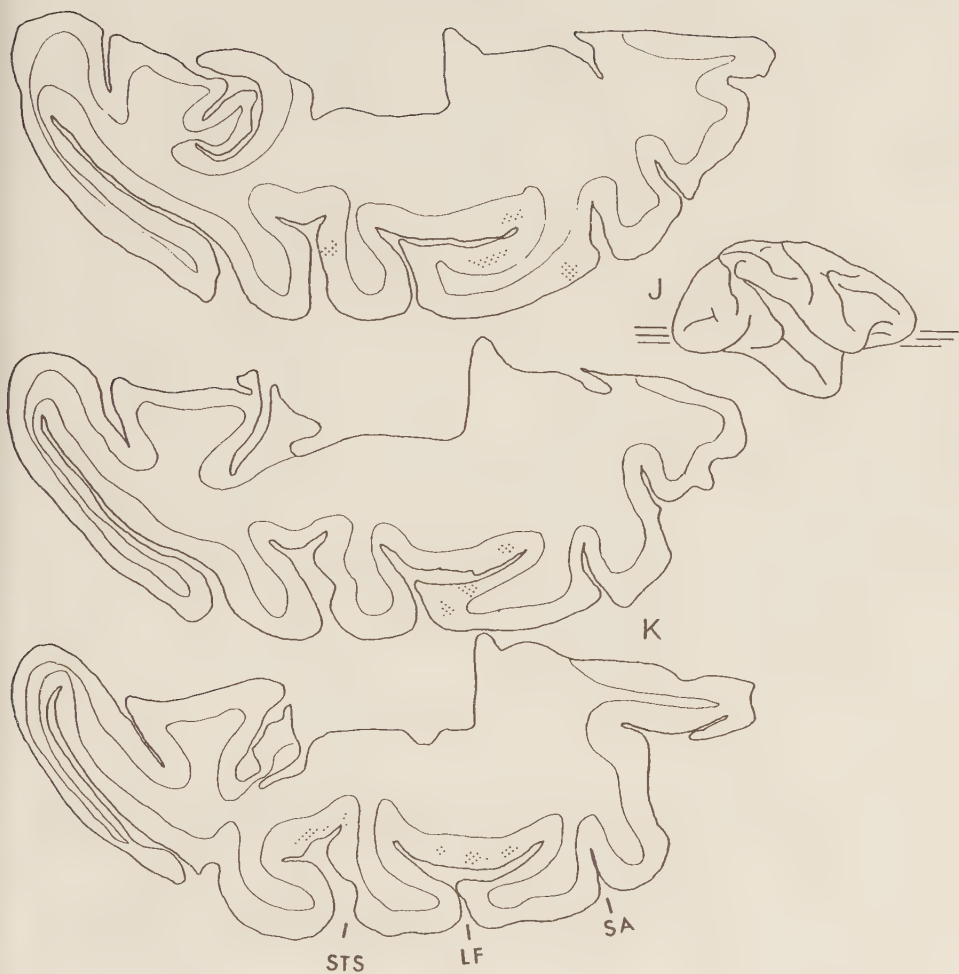


Abb.12 (J-L)

Cd 6

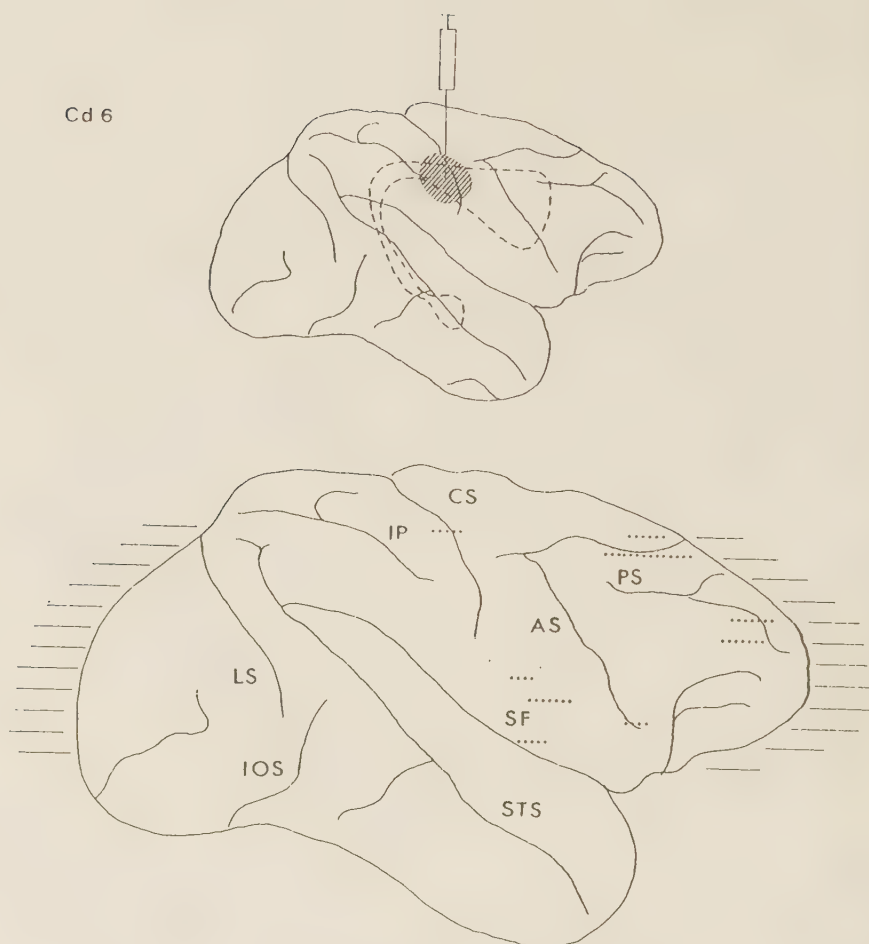


Abb.13 Rekonstruktion der Verteilung retrograd markierter Neurone nach Injektion in das Caput nuclei caudati in orthogonaler Seitenansicht der rechten Hemisphäre im Fall Cd 6.

Nur Zellen, die sich auf der lateralen Oberfläche des Kortex befanden, wurden gezeichnet. Zellen vom Fundus der Sulci wurden weggelassen.

AS	Sulcus arcuatus
CS	Sulcus centralis
IOS	Sulcus occipitalis inferior
IP	Sulcus intraparietalis
LS	Sulcus lunatus
PS	Sulcus principalis
SF	Fissura Sylvii
STS	Sulcus temporalis superior

DISKUSSION

Der Nucleus caudatus bei Primaten erhält anatomische Verbindungen von allen Abschnitten des Neokortex (BRODAL 1981). Mit Ausnahme der Arbeit von JONES und WISE (1977) lagen bisher keine Untersuchungen mit retrograden Markierungstechniken zur Organisation dieser Verbindungen beim Affen vor. JONES und WISE (1977) haben sich ebenso wie ROYCE (1982) bei der Katze im wesentlichen mit dem Schichtenursprung, der Größe und der Art der Neurone beschäftigt.

Die vorliegenden Ergebnisse bestätigen bezüglich der Schichtenverteilung der Ursprungszellen der kortikostriatalen Verbindung im wesentlichen die Ergebnisse von ROYCE und können eine Beschränkung auf Rindenschicht V, wie sie von JONES und WISE gefunden wird, nicht nachweisen. Die Ursache dieser Diskrepanz ist zunächst nicht klar. Es kann sich hier möglicherweise um ein technisches Problem handeln, da die Neurone, die zum Striatum projizieren, insgesamt sehr klein sind (siehe auch JONES und WISE 1977), ein dünnes Axonkaliber haben und dadurch nur einen geringen Stofftransport ermöglichen. Bei nicht ausreichender Sensitivität der Nachweismethode ist es möglich, daß ein Teil der kortikostriatalen Neurone, vor allem in supragranulären Schichten, nicht zur Darstellung gebracht werden.

Zielpunkt der vorliegenden Arbeit lag in der Untersuchung der Organisationsprinzipien der kortikostriatalen

Verbindung. In der grundlegenden Arbeit von KEMP und POWELL (1970) war diese Frage erstmalig systematisch untersucht worden. Als Ergebnis wurde ein streng topographisch-topologisches Organisationsmodell vorgeschlagen, nach dem der frontale Hirnrindenabschnitt zum Caput, dorsoparietale Hirnrinde zum Corpus und okzipitale Hirnrinde zur Cauda, dagegen temporale Hirnrinde in die ventrobasalen Teile des Nucleus caudatus projizieren sollten (vgl. Abb. 5 oben).

Die Formulierung einer streng topographischen Beziehung zwischen dem Neokortex und dem Nucleus caudatus erscheint schon aus theoretischen Erwägungen problematisch, da es sich um die Projektion von einer Fläche (der Hirnrinde) auf eine walzenförmige Struktur (Nucleus caudatus) handelt. Als Element eines linearen Abbildungsmodus konnte in der Untersuchung nur nachgewiesen werden, daß die anteroposterioren Nachbarschaftsverhältnisse beibehalten werden.

Aufgrund der relativ groben Untersuchungsmethoden bei KEMP und POWELL (1970), bei denen großflächige Läsionen der Hirnrinde unter Einbeziehung des Marklagers vorgenommen wurden und die Terminalfelder mit Hilfe der Versilberungstechnik degenerierender Terminale (NAUTA 1950) dargestellt wurden, die in den Basalganglien sehr schwierig durchzuführen und deshalb nicht quantitativ sind, kann eine Aussage über detaillierte topologische Zuordnung in diesem Abbildungssystem nicht getroffen werden.

Die von SELEMON und GOLDMANN-RAKIC (1985) vorgeschlagene, grundsätzlich anders, im Sinne einer mediolateralen Anordnung, strukturierte Organisation der kortikostriatalen Verbindung basiert auf einer geringen Anzahl von Experimenten mit Injektionen von Tracersubstanzen in nur wenige umschriebene Regionen der Hirnrinde. Das Modell postuliert, daß frontal gelegene Abschnitte des orbito-frontalen Kortex, des dorsolateralen Präfrontalkortex und des posterioren Parietalkortex nach medial zum Nucleus caudatus projizieren, posteriore oder temporale Abschnitte nach lateral projizieren (vgl. Abb. 5 unten).

Obwohl der Befund einer sich durch die gesamte rostro-kaudale Länge des Nucleus caudatus erstreckenden Projektion aus diesen Hirnrindenabschnitten, geordnet in einem mediolateralen Sinne, nicht bezweifelt werden kann, läßt sich daraus kein allgemeingültiges Organisationsprinzip kortikostriataler Verbindungen ableiten, da primär-sensorische oder primär-motorische Rindenfelder nicht injiziert wurden und die injizierten Assoziationsareale möglicherweise Träger von komplexen Funktionen sind. Auch die Arbeit von YETERIAN und VAN HOESSEN (1978) hatte den Nachweis erbracht, daß zumindest von bestimmten Hirnrindenarealen nicht-topographisch organisierte Projektionen zum Nucleus caudatus ausgehen. Auch in dieser Arbeit besteht das Problem, daß das postulierte Prinzip der Organisation der kortikostriataler Verbindung, nämlich daß reziprok miteinander verbundene Kortexareale gemeinsame Terminalfelder auch im

Nucleus caudatus miteinander teilen, aufgrund der geringen Fallzahl sowie der geringen Anzahl untersuchter Kortexabschnitte, nicht zu verallgemeinern ist.

Untersuchungen von LEHMANN (1984) sowie von FRIES und LEHMANN (1987), in denen sowohl kleine, präzise lokalisierte Injektionen von Markierungssubstanzen in anatomisch und funktionell identifizierte Unterabschnitte des visuellen Kortex, wie auch in sogenannte Assoziationskortices gemacht wurden, haben den Beweis erbracht, daß es in der Tat topographisch lokalisierte Projektionen im Nucleus caudatus gibt. Es liegt jedoch keine schematische topographische Abbildung, in der geringfügig weiter anterior liegende Hirnrindenabschnitte auch etwas weiter anteriore Terminalfelder im Nucleus caudatus haben, vor. Stattdessen findet sich überraschenderweise ein relativ ausgeprägtes Maß an Konvergenz von Arealen des visuellen Kortex, die identische Regionen im Gesichtsfeld repräsentieren, auf einen relativ gut umschriebenen Ort im Nucleus caudatus. Dabei war die Stärke der Projektion, d.h. insbesondere das Ausmaß der rostrokaudalen Ausdehnung der Terminalfelder offensichtlich von den funktionellen Eigenschaften des Ursprungsgebietes dieser Projektion abhängig (LEHMANN 1984). So waren die Terminalfelder nach Injektion in das Hirnrindenareal V 5, das im wesentlichen für das Bewegungssehen verantwortlich ist, am ausgedehntesten und schlossen die Terminalfelder aller anderen visuellen Hirnrindenabschnitten mit entsprechender Gesichtsfeldlokalisation ein. Die Terminalfelder aus dem

primären visuellen Kortex waren am geringsten. In der gleichen Versuchsserie ließ sich eine Organisation in rostrokaudaler Richtung im Sinne von SELEMON und GOLDMANN (1985) nach Injektion des frontalen Augenfeldes (Area 8) und des posterioren Parietallappens (Area 7) finden. Inwieweit diese sich entlang der gesamten rostrokaudalen Ausdehnung erstreckenden Terminalfelder mediolateral nebeneinander angeordnet waren, ist in der Arbeit von LEHMANN (1984) nicht untersucht worden. Es muß jedoch angenommen werden, daß im Prinzip sowohl lokale topographische als auch globale nicht-topographische Projektionsprinzipien bestehen.

Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung unterstützen und erweitern diese Ansicht. Zum einen ließ sich ein durchaus strenges topographisches Organisationsprinzip nach Injektion in den Kopf des Nucleus caudatus finden (Tier Cd 5). Zum anderen muß das Ergebnis im Fall Cd 6, bei dem nach Injektion in das Corpus nuclei caudati zwar funktionell zusammengehörige, jedoch topographisch heterogene Kortexabschnitte mit gefüllten Zellen markiert waren, eher als Ausdruck eines Prinzips funktioneller Konvergenz als eines rein geometrisch-topographischen Abbildungsprinzips gesehen werden.

Außerordentlich bemerkenswert ist die Tatsache, daß in keinem der Fälle in den Assoziationsarealen, von denen aus eine globale Projektion zu allen Abschnitten des Nucleus caudatus mit anterograden Methoden nachgewiesen wurde, sich

auch retrograd markierte Zellen finden ließen. Dieser Befund stellt jedoch die Existenz solcher globaler Projektionen nicht in Frage. Vielmehr ist es wahrscheinlich, daß hier ein außerordentlich feines Verzweigungsmuster der Endabschnitte der Axone durch die hier angewandte Methode nicht mehr erfaßt werden konnte. Bekanntermaßen sind die kortikostriatalen Neurone klein bis sehr klein (siehe JONES und WISE 1977), dies haben auch unsere Ergebnisse gezeigt. Man muß annehmen, daß die Projektion zum Beispiel vom frontalen Augenfeld oder der Area 7, eher durch eine durch den gesamten Nucleus caudatus hindurch verbreitete Endverzweigung der Axone, als durch kortikale Neuronenpopulationen, die in der Tat ihre Axone relativ einzeln in verschiedene Abschnitte des Nucleus caudatus senden, zustande kommt. Durch diese enorme Aufzweigung wird jedoch das Axonkaliber so dünn, daß die transportierte Stoffmenge zum einen, die Aufnahmerate des injizierten Enzyms zum anderen so gering wird, daß die Sensitivität der von uns angewandten Methode nicht ausreicht, derartig geringe Enzymmengen im Soma sichtbar zu machen.

Zusammen mit der Arbeit von LEHMANN (1984) kann man daher aufgrund der vorliegenden Ergebnisse ein Prinzip kortikostriataler Verbindung formulieren, das sowohl ein relatives topographisches wie auch ein globales ubiquitäres Element enthält.

Für das Verständnis der Funktion der Basalganglien ist von außerordentlicher Wichtigkeit, daß das topographische Prinzip nicht im Sinne einer rein geometrischen Abbildung verstanden wird, sondern es im Nucleus caudatus offensichtlich, wie der Fall Cd 5 gezeigt hat, zu einer lokalen Konvergenz der Projektion von Hirnrindenabschnitten kommt, die funktionell ähnliche Bedeutung haben, oder in ihrer Funktion kooperieren. Ob es sich dabei um Nachbarschaftsverhältnisse im strikt geometrischen Sinne handelt oder nicht, scheint weniger erheblich.

Außerdem ist offensichtlich, daß ubiquitäre Projektionen auf bestimmte Hirnrindenabschnitte beschränkt sind. Zumindest nach der Arbeit von LEHMANN (1984) können Area 7, der posteriore Parietallappen, und Area 8, das frontale Augenfeld, als Hirnrindenabschnitte angesehen werden, die funktionell der Repräsentation des extrapersonalen Raumes dienen.

Es erscheint sinnvoll und plausibel, daß die Information über die Konfiguration des extrapersonalen Raumes über den gesamten Nucleus caudatus verbreitet ist und dort an jeder Stelle jeweils mit den lokalen sensorisch-motorischen Informationen kombiniert werden kann. Auf dieser Basis ist die Vorstellung vom Striatum als zentralem sensomotorischen Integrationsorgan, in dem komplexe zielgerichtete Bewegungen programmiert werden, durchaus verständlich.

Das Ergebnis der striatalen sensomotorischen Integration wird dann über den Thalamus in prämotorische Kortexareale, insbesondere die sogenannte supplementäre motorische Area (SMA) und den eigentlichen prämotorischen Kortex (Area 6) projiziert (ALEXANDER et al. 1986) und kann über weitere kortikale Verbindungen im primären motorischen Kortex (Area 4) die Willkürmotorik beeinflussen.

ZUSAMMENFASSUNG

Die kortikostriatalen Verbindungen bei Altweltaffen (*Macaca fascicularis*) wurden mit Hilfe von retrograden Markierungsmethoden untersucht. Dabei wurden Injektionen von HRP-WGA in frontale (*Caput nuclei caudati*) und dorsale (*Corpus nuclei caudati*) Abschnitte gesetzt und die Verteilung retrograd markierter Neurone in der Hirnrinde rekonstruiert. Die enzymhistochemische Darstellung des transportierten Enzym-Lektinkomplexes (HRP-WGA) erfolgte nach MESULAM (1978). Dabei wird mit Tetramethylbenzidin ein Reaktionsprodukt gebildet, das in kristalliner Form in den histologischen Schnitten vorliegt und mit polarisations-optischen Methoden dargestellt werden kann.

Die Verteilung retrograd markierter Neurone nach Injektion in das *Caput nuclei caudati* war im wesentlichen auf die frontalen Abschnitte der Hirnrinde, den Frontalpol und den infraorbitalen Kortex beschränkt. In der Rekonstruktion aus Serienschnitten fand sich eine eher homogen ausgebreitete Verteilung.

Injektion in das *Corpus nuclei caudati* führte zu einer prinzipiell unterschiedlichen Verteilung. Markierte Neurone waren in Gruppen ("cluster") verteilt. Diese "cluster" waren im wesentlichen im prämotorischen Kortex im Bereich der Hinterlippe des *Sulcus arcuatus* sowie in kaudalen Abschnitten des *Sulcus centralis* im primär motorischen Kortex lokalisiert. Weitere "cluster" fanden sich in der somatosensiblen Hirnrinde und zwar in der zweiten somato-

topen Repräsentation (S II) in der Vorderlippe des Sulcus lateralis. Vereinzelte Neurone fanden sich verstreut in der Vorderlippe des Sulcus temporalis superior sowie in dem visuellen Areal V 5, das dem Bewegungssehen dient, in der Hinterlippe des Sulcus temporalis superior. Obwohl es sich topographisch um eine heterogene Verteilung handelt, liegt funktionell doch eine topographische Einheitlichkeit vor, bei der es sich in der Verteilung der "cluster" im wesentlichen um prämotorische, motorische und somatosensible Repräsentationen der oberen Extremität handelt.

Eine Markierung von retrograd gefärbten Neuronen im frontalen Augenfeld beziehungsweise im posterioren Parietallappen fand sich in beiden Fällen nicht.

Die Schichtenlokalisation der retrograd markierten Neurone betraf im wesentlichen Schicht V, jedoch auch supra- und infragranuläre Schichten.

Aus den vorliegenden Daten wurde zusammen mit Befunden aus der Literatur eine Hypothese zum Prinzip der Organisation kortikostriataler Verbindungen entwickelt. Danach gibt es sowohl topographisch organisierte Projektionen, wie auch ubiquitäre, sich über die gesamte rostrocaudale Ausdehnung des Nucleus caudatus erstreckende, denen wir die Repräsentation des extrapersonalen Raumes zuschreiben. Die Konvergenz solcher lokalen topischen Information mit globaler Rauminformation scheint eine wesentliche Voraussetzung für die Programmierung von zielgerichteten Willkürbewegungen zu sein, an denen nach neueren Erkenntnissen die Basalganglien wesentlichen Anteil haben.

SUMMARY

Retrograde labelling of corticostriatal neurons
with WGA-HRP in the macaque monkey:
an experimental contribution to the organisation of
corticostriatal projections

Corticostriatal projections were studied in Old World monkeys (*Macaca fascicularis*) by retrograde tract-tracing (injections into the caudate nucleus of horseradish peroxidase coupled with wheat germ agglutinin). Frontal and dorsal injections (head resp. body of the caudate) and enzyme histochemistry (formation of tetramethylbenzidine according to Mesulam 1978) were followed by visualization of chromogen in polarized light and plotting of the distribution of retrogradely labelled cell bodies.

Labelled neurons after injection into the head of the caudate were mainly distributed in frontal cortical areas: the frontal pole and the infraorbital cortex. Reconstructions from serial sections showed a rather homogenous distribution.

Injection into the body of the caudate resulted in a completely different pattern: labelled neurons were clustered. These cell clusters were mainly found in premotor cortex, in the posterior bank of the arcuate sulcus and in caudal regions of the central sulcus in primary motor cortex. Additional cell clusters were observed in somatosensory cortex, especially in S II, the second somatotopic representation on the anterior bank of

the lateral sulcus. Several neurons were found scattered in the anterior bank of the superior temporal sulcus as well as in visual area V 5 in the posterior bank of this sulcus. V 5 functionally subserves the analysis of moving stimuli. Topographically this represents a heterogenous distribution, but functionally there is uniformity, since the observed clusters mainly belong to cortical premotor, motor and sensory representations of the upper extremity.

Retrogradely labelled neurons were found neither in the frontal eye fields nor in posterior parietal cortex.

Retrogradely labelled neurons were mainly found in cortical layer V, but not exclusively, since there was labelling also in supra- as well as infragranular layers.

These data together with findings from the literature allow a hypothesis on the principle of organization of corticostriatal connections. According to it there are topographically organized projections as well as ubiquitous connections, spanning the full rostrocaudal extent of the caudate nucleus and likely to be involved in the representation of extrapersonal space. Convergence of local topographic information with global information on space seems to be an essential prerequisite for the programming of goal-directed voluntary movement, a major function of the basal ganglia according to recent findings.

LITERATURVERZEICHNIS

- ADAMS R.D., VICTOR M. 1985. Principles of neurology,
3. Aufl.
Mc Graw-Hill, New York
- ALEXANDER G.E. 1986. Parallel organisation of functionally
segregated circuits linking basal ganglia and cortex.
Ann. Rev. Neuroscience 9: 357-381
- BRODAL A. 1981. Neurological anatomy in relation to
clinical medicine, 3. Aufl.
Oxford University Press, New York, Oxford
- BRODMANN K. 1905. Beiträge zur histologischen Lokalisation
der Großhirnrinde III.
Die Rindenfelder der niederen Affen.
Journal für Psychologie und Neurologie 4: 176-226
- CAAN W., PERRETT D.I., ROLLS E.T. 1984. Responses of
striatal neurons in the behaving monkey.
II. Visual processing in the caudal neostriatum.
Brain Research 290: 53-65
- DESIMONE T., UNGERLEIDER L.G.R., GALKIN, MISHKIN M. 1984.
Subcortical projections of area MT in the macaque.
Journal of Comparative Neurology 223: 368-386
- DEVITO J.L. and SMITH O.A. 1964. Subcortical projections of the
prefrontal lobe of the monkey.
Journal of Comparative Neurology 123: 413 - 424
- FRIES W. und ZEKI S.M. 1983. Laminar origin of cortical
inputs into macaque prestriate visual cortex.
Neuroscience Letters (suppl): 217
- FRIES W. 1984. Cortical projections to the superior
colliculus in the macaque monkey: A retrograde study
using horseradish peroxidase.
Journal of Comparative Neurology 230: 55-76
- FRIES W., LEHMANN A. 1987. Visual cortical projections to
the caudate nucleus in the macaque.
Society for Neuroscience Abstracts 13: 563
- GILBERT C.D. 1977. Laminar differences in receptive field
properties in cat primary visual cortex.
Journal of Physiology, London 268: 391-421
- GLICKSTEIN M., MAY J.G., MERCIER B.E. 1985. Corticopontine
projection in the macaque: The distribution of
labelled cortical cells after large injections of HRP
in the pontine nuclei.
Journal of Comparative Neurology 235: 343-359

- GROSS C.G., BRUCE C., DESIMONE R. 1981. Visual properties of neurons in polysensory area on superior temporal sulcus of the macaque.
Journal of Neurophysiology 46: 369-384
- JOHNSON T.N. ROSVOLD H.E. and MISHKIN M. 1968. Projections from behaviorally defined sectors of the prefrontal cortex to the basal ganglia, septum and diencephalon of the monkey.
Experimental Neurology 21: 20-34
- JONES E.G., WISE S.P. 1977. Size, laminar and columnar distribution of efferent cells in the sensory-motor cortex of monkeys.
Journal of Comparative Neurology 175: 391-438
- KEMP J.P., POWELL T.P.S. 1970. The corticostriate projection in the monkey.
Brain 93: 525-546
- LEHMANN A. 1984. Visuelle kortikale Afferenzen zum Nucleus caudatus bei Affen.
Diss. med. vet., München
- MESULAM M. 1978. Tetramethylbenzidine for horseradish peroxidase neurochemistry: A non-carcinogenic blue reaction product with superior sensitivity for visualizing neural afferents and efferents.
Journal of Histochemistry and Cytochemistry 26: 106-117
- NAUTA W.J.H. 1950. Über die sogenannte terminale Degeneration im Zentralnervensystem und ihre Darstellung durch Silberimprägnation.
Arch. Neurol. Psychiatr. 66: 353-376
- NIEUWENHUYIS R., VOOGD J., VAN HUIJZEN C. 1979. The human central nervous system. A synopsis and atlas.
Springer Verlag; Berlin, Heidelberg, New York.
- PEARSON R.C.A., GATTER K.C., POWELL T.S. 1983. The cortical relationships of certain basal ganglia and the cholinergic basal forebrain nuclei.
Brain Research 26: 327-330
- PETRAS J.M. 1969. Some efferent connections of the superior and inferior parietal lobules with the basal ganglia, diencephalon and midbrain in the rhesus monkey.
Anatomical Record 163: 243-244
- ROLLS E.T., THORPE S.J., MADDISON S.F. 1983. Responses of striatal neurons in the behaving monkey.
I. Head of the caudate nucleus.
Brain Research 7: 179-210

- ROYCE G.J. 1982. Laminar origin of cortical neurons which project upon the caudate nucleus: a horse radish peroxidase investigation in the cat.
Journal of Comparative Neurology 205: 8-29
- SELEMON L.B., GOLDMANN-PAFIC 1985. Longitudinal topography and interdigitation of corticostriatal projections in the rhesus monkey.
Journal of Neuroscience, March: 776-794
- SZABO J., COWAN N.M. 1984: A stereotactic atlas of the brain of the cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*).
Journal of Comparative Neurology 222: 265-300
- TEUBER H.L. 1976. Complex functions of the basal ganglia.
Raven Press, New York 151-168
- YETERIAN E.H., VAN HOESEN G.W. 1978. Cortico-striate projections in the rhesus monkey: The organisation of certain cortico-caudate connections.
Brain Research 139: 43-63
- VANEGAS H., HOLLANDER R., DISTEL H. 1978. Early stages of uptake and transport of horseradish peroxidase by cortical structures and its use for the study of local neurons and their processes.
Journal of Comparative Neurology 177: 193-212
- WARR W.B., DE OLMOS, HEIMER L. 1981. Horseradish peroxidase: The basic procedure. Seite 207-262 in: Heimer L., Robards M.J. (Hrsg.); Neuroanatomical tract- tracing methods.
Plenum Press, New York and London
- WHITLOCK D.G., NAUTA W.J.H. 1956. Subcortical projections from the temporal neocortex in macaca mulatta.
Journal of Comparative Neurology 106: 182-212
- ZEVI S.M. 1978. Functional specialisation in the visual cortex of the rhesus monkey.
Nature 274: 423 - 428

ANHANG

Verwendete Lösungen und histologische Prozeduren

SÖRENSEN-Puffer

- I. 0.1 M KH_2PO_4 (MG 136.1): 13.61 g auf 1 l aqua dest.
II. 0.1 M Na_2HPO_4 (MG 177.99) 17.99 g auf 1 l aqua dest.

Für pH 7.4 wird ein Mischungsverhältnis von 1 Teil
Lösung I. mit 3 Teilen Lösung II. verwendet.
z.B. 1000 ml I. + 3000 ml II.

Um den gewünschten pH-Wert exakt zu erreichen, muß mit HCl
bzw. NaOH ausgeglichen werden.

Perfusionsfixierung nach JACOBSEN und TROJANOWSKI 1974

Substanz für 1 l

4 Na-Cacodylat	3.21 g	+	50 ml aqua dest.
3 $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0.125 g		
2 Glutaraldehyd 25%			100 ml
Na-Cacodylat pH 7.2	16.5 g	+	750 ml aqua dest.

Reagenzien:

1. Paraformaldehyd	5	%	Merck Nr.	4 005
2. Glutaraldehyd	25	%	Merck Nr.	820 603
3. $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0.01	%	Roth Nr.	7 729
4. Na-Cacodylat-Puffer	0.09	M	Roth Nr.	5 169
5. Na-Cacodylat in Aqua	6.42	%		

Herstellung: Paraformaldehyd (1) in Aqua bei 60°C und mit
einigen Tropfen NaOH lösen, zu (4) Na-Cacodylat gießen, auf
pH 7.2 einstellen (25% HCl), dazu $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (3) und
Glutaraldehyd (2) gießen, mit Na-Cacodylatpuffer (5) auf
gewünschte Menge auffüllen und auf pH 7.2 einstellen.

Tetramethylbenzidin (TMB) - Reaktion nach MESULAM 1978

Chemikalien: 3,3,5,5 Tetramethylbenzidin Sigma Nr. T-2885
Na-Acetat Merck Nr. 6265
Nitroprussid-Na Merck Nr. 6541

Lösungen: Puffer: 27.2 g Na-Acetat (MG 136.08) in 800 ml
H₂O lösen + 180 ml 1 M HCl dazugeben,
pH 3.3 mit HCl einstellen, auf 1000 ml
auffüllen.

Lösung A: 555 ml Aqua
600 ml Nitroprussid-Na
30 ml Acetatpuffer

Lösung B: 30 mg TMB
15 ml Äthanol abs.
(kann auf 37°C erhitzt werden)

Arbeitsschritte:

1. Zweimaliges Waschen in Waschlösung (einige Minuten)
2. Vorinkubation
 $\frac{1}{2}$ Lösung A + $\frac{1}{2}$ Lösung B (20 Minuten)
3. Hauptinkubation
 $\frac{1}{2}$ Lösung A + $\frac{1}{2}$ Lösung B + 9 ml 0.3% H₂O₂ (20 Min.)
4. Viermal waschen in kalter Waschlösung (4-10°C)
5. Aus kalter Waschlösung aufziehen auf gelatinisierte Objektträger
6. Lufttrocknen über Nacht
7. Zweimal hintereinander Entwässern in 100% Alkohol (10 Sekunden), anschließend in Xylol
8. Eindecken in DPX

Zu beachten ist

1. TMB ist temperaturempfindlich (nicht über 37°C erhitzen)
2. TMB ist pH-empfindlich (pH sollte im Sauren bleiben)
3. TMB ist stark alkoholempfindlich
4. Färbegefäße sollten gut gereinigt sein
5. Schnitte sollten nicht länger als eine Stunde in der Waschlösung liegen
6. Lösung A und B dürfen erst unmittelbar vor Gebrauch hergestellt werden, die Pufferlösung ist länger haltbar

Thionin-Gegenfärbung für Tetramethylbenzidin (TMB) nach ADAMS 1980

1. Vorinkubation: Lösung A + Lösung B 20 min
2. Inkubation: Lösung A + Lösung B + 0.33% H₂O₂ 10 min
3. Waschen: 0.1 M Waschlösung
4. Aufziehen: gelatinisierte (1%) Objektträger
5. Trocknen: über Nacht
6. Entwässern: Methylsalicylat 3 min
7. Dehydrieren: 100% Alkohol
96% Alkohol rasch
70% Alkohol
8. Färben: Acetatwaschlösung pH 3.7
0.1% Thionin in Acetatwaschlösung 1 min
9. Differenzieren: 70% Alkohol 10 sec
96% Alkohol 30 sec
100% Alkohol 15 sec
Xylol
10. Eindecken

Achtung: Farblösung immer frisch ansetzen, Thionin in Waschlösung (nicht im Acetattpuffer) lösen, vor Gebrauch filtrieren, pH 3.7 genau einstellen.

Meerrettich-Peroxidase-Methode mit Diaminobenzidin (DAB) nach MALMGREN und OLSON 1978

1. Schneiden in Phosphatpuffer (40 µm Gefrierschnitte), bei pH 7.4
2. Spülen der Schnitte im Phosphatpuffer
3. Spülen der Schnitte im Na-Cacodylatpuffer, 0.1 M, bei pH 7.4
4. Inkubation im Dunkeln bei Zimmertemperatur (30 Minuten)
5. Schnitte aus Puffer auf gelatinisierte Objektträger aufziehen
6. Ergebnis:
Injektionsstelle tief rotbraun bis dunkelbraun.
Rot- bis dunkelbraune HRP-Granula in den retrograd markierten Zellen.

Lösungen für 100 Schnitte:

300 ml Na-Cacodylat 0.1 M, pH 5.5
0.3 g Diaminobenzidin (DAB)
100 µl H₂O₂ (30%)

Wichtig! pH genau auf 5.1 einstellen und
Inkubationslösung unmittelbar vor Gebrauch ansetzen

DANKSAGUNGEN

Herrn Privatdozent Dr. W. Fries danke ich für die Überlassung des Themas und für die Betreuung sowohl bei der Durchführung der Untersuchungen, als auch bei den theoretischen Fragestellungen.

Danken möchte ich allen Mitarbeitern im Labor, besonders Frau Heliane Lössl. Herrn Dr. A. Danek danke ich für Anregungen und kritische Durchsicht der Arbeit.

Besonderer Dank gebührt Herrn Prof. Dr. E. Pöppel für die Ermöglichung der experimentellen Arbeit an seinem Institut und für meine Anstellung als studentische Hilfskraft während dieser Zeit.

Ohne die Betreuung seitens der Tierärztlichen Fakultät, die Prof. Dr. H. E. König auch während seiner Gastprofessur im fernen Chile übernahm, wäre diese Doktorarbeit nicht möglich gewesen.

Der experimentelle Teil der Arbeit wurde in der Zeit von Januar 1985 bis September 1986 durchgeführt.

LEBENS LAUF

Persönliche Daten: Miklos Ruffy Varga, geboren
am 24.09.53 in Budapest, Ungarn
wohnhaft Sollnerstr.3, 8023 Pullach
katholisch, ledig

Schulbesuch:
01.09.60 - 01.06.68 Volksschule in Budapest
01.09.68 - 08.06.72 Gymnasium in Budapest
08.06.72 Abitur

Berufsausbildung:
01.09.73 - 21.06.78 Studium an der Universität für Agrar-
wissenschaften in Gödöllő, Ungarn
21.06.78 Studienabschluß als Dipl.Ing.Agr. für
Betriebsorganisation

Militärdienst:
01.09.72 - 01.08.73
01.02.79 - 31.08.79

Berufstätigkeit:
01.09.78 - 31.09.79 Praktikant im Landwirtschafts-
ministerium in Budapest
01.09.79 - 31.05.80 Referent für Tierzucht und -fütterung
in einem staatlichen Viehzuchtbetrieb

Werdegang in der Bundesrepublik Deutschland:
01.06.80 Übersiedlung nach München

09.02.81 - 04.09.81 Deutscher Sprachkurs, Goethe-Institut

01.03.82 - 30.10.82 Ausbildung zum EDV-Programmierer -
Berufsfachschule für Datenverarbeitung
(nach Erhalt des Studienplatzes für
Tiermedizin nicht abgeschlossen)

01.11.82 - 03.11.87 Studium an der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität in
München

01.01.85 Anstellung als studentische Hilfskraft
am Institut für Medizinische Psychologie
der Ludwig-Maximilians-Universität
im Rahmen der Dissertation

03.11.87 Tierärztliches Staatsexamen

01.01.88 Anstellung als Assistent
in der tierärztlichen Praxis für
Pferde und Kleintiere,
Dr. Friedrich Andres, 7887 Laufenburg

